

UMSETZUNG VON MALTOSE MIT METHYLAMMONIUMACETAT
ALS BEITRAG ZUR KENNTNIS DER MAILLARD-REAKTION

Albert Loidl

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

UMSETZUNG VON MALTOSE MIT METHYLAMMONIUMACETAT
ALS BEITRAG ZUR KENNTNIS DER MAILLARD-REAKTION

I N A U G U R A L - D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung des Doktorgrades

des

Fachbereichs Chemie und Pharmazie

der Ludwig-Maximilians-Universität München



vorgelegt von
Albert Loidl
aus Surheim

München 1976

Berichterstatter: Prof.Dr.Th.Severin

Mitberichterstatter: Prof.Dr.F.Eiden

Tag der mündlichen Prüfung: 29.7.1976



Die vorliegende Arbeit entstand auf Anregung und unter
Anleitung von

Herrn Professor Dr.Theodor Severin
am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der
Ludwig-Maximilians-Universität München. Für seine
großzügige Unterstützung und stets wohlwollende Hilfe
möchte ich Herrn Prof.Severin meinen herzlichen Dank
aussprechen.

Frau I. Stekker möchte ich für die Anfertigung der NMR-Spektren sowie Herrn Dr. H. Lerche für die Aufnahme der Massenspektren danken. Frau A. Ziegler und Frau M. Pelka bin ich für ihre Hilfe beim analytischen Arbeiten zu Dank verpflichtet. Eva Prochazka danke ich für das Schreiben des Manuskripts.

INHALTSVERZEICHNIS

THEORETISCHER TEIL

Seite

1. Einleitung	1
2. Darstellung des Problems der Veranschaulichung der Festlegung von 1,2-Knoten-5-Knoten-graden (a) (b)	10
3. Lösung von 2) von Thomas Inselmann	11
4. Lösung von 3) von Stefan J. J. J. J.	12
5. Darstellung von J. J. J. J. J.	13
6. Darstellung von J. J. J. J. J.	14
7. Lösung von 4) Meinen Eltern gewidmet	15
8. Darstellung von J. J. J. J. J.	16
9. Darstellung von J. J. J. J. J.	17
10. Darstellung von J. J. J. J. J.	18
11. Zusammenfassung	19
12. Literaturverzeichnis	20

Inhaltsverzeichnis:

Theoretischer Teil	Seite
1) Einleitung	1
2) Umsetzung von Maltose mit Methylammonacetat; 10 Isolierung von 1,2-Dimethyl-3-hydroxy-pyridon- (4) (<u>21</u>)	
3) Bildung von <u>21</u> aus Glucose bzw. Lactose	29
4) Bildung von <u>21</u> aus Maltol bzw. Isomaltol	31
5) Umsetzung von Isomaltol mit Glycin	36
6) Umsetzung von Isomaltolmethyläther mit Methylammoniumacetat	45
7) Bildung von Pyridonen bei der Umsetzung von reduzierenden Zuckern mit Amino- komponenten	50
8) GC/MS-Analyse der Umsetzung Maltose mit Methylammoniumacetat	61
9) GC/MS-Analyse von karamellisierter Glucose bzw. Maltose	68
10) GC/MS-Untersuchung von Malz Dunkel bzw. Färbemalz	78
11) Zusammenfassung	84
12) Literaturverzeichnis	86

Experimenteller Teil	Seite
1) Umsetzung von Maltose bzw. Lactose mit Methyl- ammoniumacetat	93
2) Bildung von $\underline{\underline{21}}$ aus Maltol bzw. Isomaltol	94
3) Bildung von 1-Carboxymethyl-3-hydroxy-2-methyl- pyridon-(4) ($\underline{\underline{39}}$)	97
4) Umsetzung von $\underline{\underline{21}}$ Isomaltol mit Lysin bzw. N- α -Ace- tyl-Lysin	99
5) Bildung von 2-Acetyl-3-methoxy-1-methyl-pyrrol ($\underline{\underline{41}}$)	99
6) GC/MS-Analyse von karamellisierter Glucose bzw. Maltose	100
7) GC/MS-Analyse von Malz Dunkel bzw. Färbemalz	101

Theoretischer Teil

Ein Blick auf die Aromakomponenten von Lebensmitteln zeigt uns, daß es hunderte von Substanzen gibt, die aus Kohlenhydraten, Fetten, Aminosäuren und anderen Lebensmittelinhaltsstoffen gebildet werden. Die Aromabildung stellt ein sehr kompliziertes Kapitel der Chemie dar. Um zu näheren Erkenntnissen über die dabei ablaufenden Reaktionen und die sich bildenden Produkte zu gelangen, erscheint es daher sinnvoll, dies an Hand von einfachen Modellreaktionen näher zu untersuchen.

Bei vielen technologischen Prozessen, die der Zubereitung oder Haltbarmachung von Lebensmitteln dienen, treten Bräunungsreaktionen auf. Als Beispiele lassen sich das Braten von Fleisch, Brotbacken, das Rösten von Kaffee oder Erdnüssen oder das Malzdarren aufführen. Die Kohlehydrate, ein Bestandteil dieser Nahrungsmittel, beginnen sich beim Erhitzen um oder über ihren Zersetzungspunkt braun zu färben. Aminosäuren unterliegen dagegen bei Temperaturen bis 200°C überwiegend zunächst nur einer Decarboxylierung.

Im Gegensatz dazu führt die von L.C.Maillard ¹⁾ beschriebene Umsetzung von Zuckern mit Aminosäuren bereits bei Temperaturen von 50° - 70° C sowohl zur Bildung von niedermolekularen, geruchsintensiven Verbindungen als auch zu höhermolekularen, gelben bis dunkelbraunen Produkten unbekannter Struktur, den sogenannten Melanoidinen. Diese Reaktion ist von großem Interesse, da in Lebensmitteln Zucker und Proteine nebeneinander vorliegen und bei Hitzeeinwirkung mit-

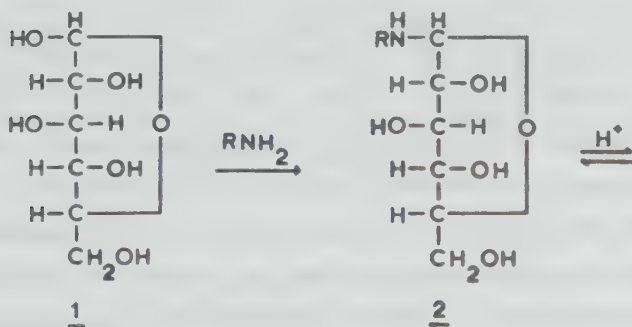
einander reagieren können.

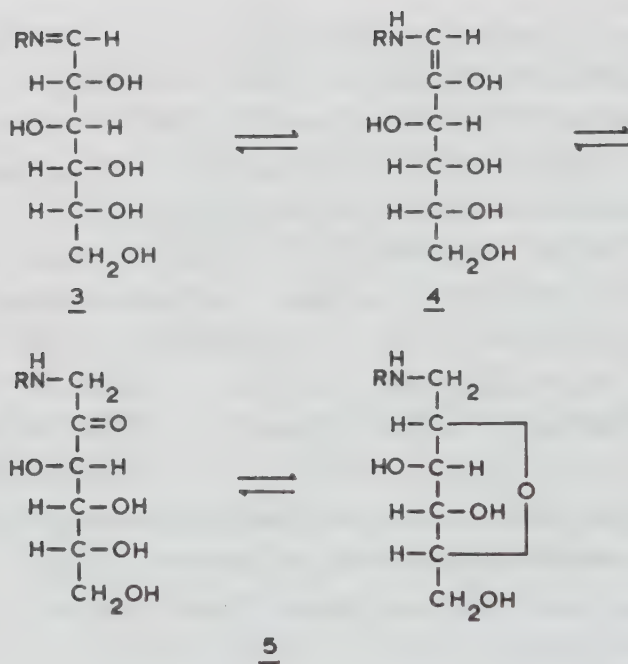
Daneben wurde festgestellt ²⁾, daß Zucker auch bei Abwesenheit von Aminosäuren unter katalytischer Wirkung von Säuren und Basen braune Pigmente bilden können. C. Enders ³⁾ weitete den Begriff der Melanoidinbildungsreaktion auf Verbindungen mit freier Carbonylgruppe und solche mit Aminogruppen aus, woraus sich der Oberbegriff der "nichtenzymatischen Bräunung" einbürgerte. Im Gegensatz dazu ist die beim Zerkleinern von Obst und Kartoffeln zu beobachtende Braunfärbung auf die oxydative Wirkung von Enzymen auf Phenole und Polyphenole zurückzuführen.

Der Bräunungsvorgang ist häufig für das Aussehen und die geschmackliche Eigenart eines Lebensmittels erwünscht bzw. notwendig, z.B. bei der Kruste von Brot oder bei geröstetem Kaffee. Andererseits kann die Bildung von Melanoidinen auch zur Wertminderung führen, wenn Aroma und Geschmack unangenehm werden oder Verfärbung das Lebensmittel unansehnlich macht, so z.B. Farbänderung und Geschmacksänderung bei zu warmer Lagerung von Konserven, Braunfärbung von Milchpulver. Unbekannt ist auch noch die ernährungsphysiologische Auswirkung von Bräunungsreaktionen. Im menschlichen Organismus werden Kohlehydrate oder Proteine spezifisch von Amylasen oder Proteasen abgebaut. Durch enzymatische Testversuche an isolierten Bräunungsprodukten ist noch zu klären, ob diese Enzyme auch die chemisch andersartigen Melanoidine zu verdaulichen Verbindungen abbauen können.

Als erster Schritt der Maillard-Reaktion wurde der Angriff der Zuckercarbonylgruppe von Aldosen oder Ketosen auf die Aminogruppe der Aminosäuren oder der Amine erkannt. In vielen Fällen konnten die daraus hervorgehenden Kondensationsprodukte, nämlich Aldosylamine und Ketosylamine, in Substanz isoliert werden. Aldosylamine, die aus primären Aminen entstanden sind, können unter bestimmten Reaktionsbedingungen mit einem weiteren Mol Zucker zu Dialdosylaminen reagieren ⁴⁾. Unter katalytischem Einfluß von Säure vollzieht sich bei Aldosylaminen die Amadoriumlagerung, die zu den entsprechenden 1-Desoxy-1-aminoketosen führt. Von verschiedenen Autoren wurden hierfür mögliche Reaktionsmechanismen vorgeschlagen ⁵⁾. Die wesentlichen Schritte zur Bildung der 1-Desoxy-1-aminoketosen sind im folgenden Schema 1 aufgezeichnet:

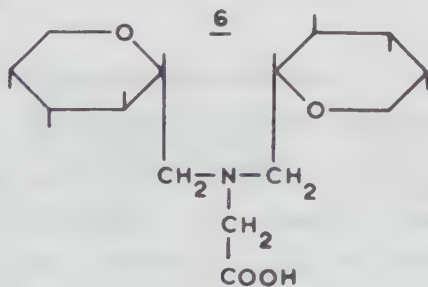
Schema 1:



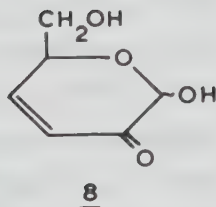
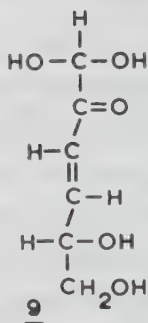
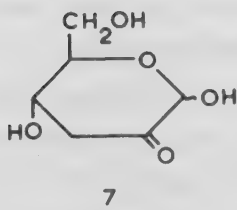


Aus Glucose (1) und dem Amin bildet sich unter Wasseraustritt das Glucosylamin 2. Ringöffnung wird durch die Protonierung des Ringsauerstoffs hervorgerufen, wobei die Schiff'sche Base 3 entsteht. Tautomerisierung führt anschließend über die Zwischenstufe des Aminoenols 4 zur 1-Desoxy-1-aminofructose (5). Entsprechendes Verhalten zeigen auch die Ketosen; sie bilden über Ketosylamine durch eine Heyns-Carson-Umlagerung ⁶⁾ 2-Desoxy-2-aminoaldosen. Über die Weiterreaktion der 1-Desoxy-1-aminoketosen zu braunen Produkten ist wenig bekannt. Durch Keto-Enol-Umlagerungen bzw. Verschiebung der Doppelbindung kann Wasserabspaltung stattfinden. Ebenso kann bei Aminoketo-

sen, die eine zur Ketogruppe β -ständige Hydroxylgruppe besitzen, Retroaldoladdition eintreten. Gleichermaßen werden durch Dismutationen Zuckerumwandlungsprodukte gebildet, die selbst wieder an den Bräunungsreaktionen teilnehmen können. Aminosäuren fungieren dabei als Säure- bzw. Basenkatalysatoren ⁷⁾. Als Zwischenprodukte entstehen dabei unter anderen Dicarbonylverbindungen. Beim Erhitzen von Glucose mit Glycin fand Anet ⁸⁾ das Difructosylglycin (6).

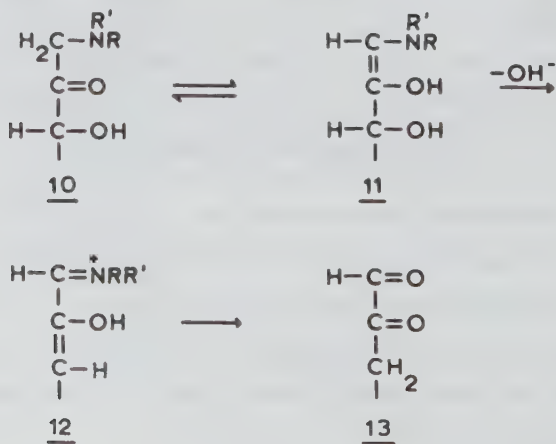


Difructosylglycin zersetzt sich in wässriger Lösung in Fructosylglycin und in eine Reihe neutraler Carbonylverbindungen. So gelang es, das gesättigte 3-Desoxyglucoson (7), sowie zwei ungesättigte Osone 8 und 9, nämlich 3,4-Didesoxy-1,2-glucoson-3-en in cis- und trans-Form zu isolieren.

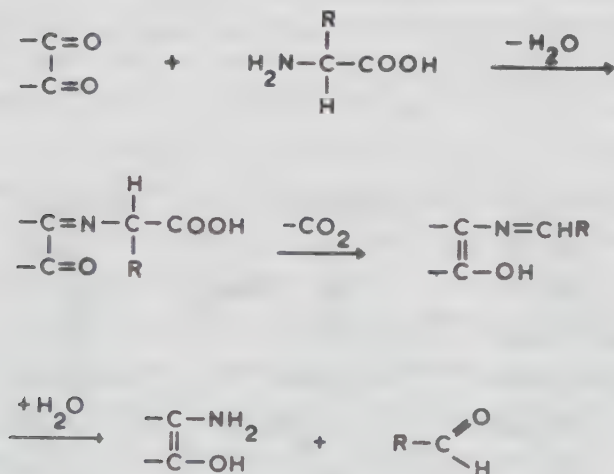


Die Reaktion der 1-Desoxy-1-aminoketosen (5) zu Osonen wird durch den folgenden Mechanismus erläutert:

Das Amadori-Produkt 10, dessen Enolform durch 11 wiedergegeben wird, kann als Enamin am C 3 Atom eine Hydroxylgruppe abspalten, wodurch das Enol 12 entsteht. Daraus geht durch Umlagerung in die Ketoform und hydrolytische Aminabspaltung das entsprechende 3-Desoxyoson 13 hervor.



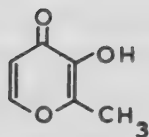
Ozone können bei Vorhandensein von Aminosäuren mit diesen weiterreagieren; die Aminosäuren werden dabei zu den um ein C-Atom ärmeren Aldehyden abgebaut ⁹⁾. Diese unter dem Namen Strecker-Abbau bekannte Reaktion verläuft nach folgendem Schema:



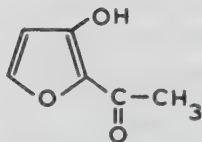
Verschiedene Furanderivate, wie Furfurol und Hydroxymethylfurfurol, werden unter den Bedingungen der Maillard-Reaktion gebildet, wobei die intermediär auftretenden 3-Desoxyosone unter Aminkatalyse entstehen. Die Ozone sind als α -Dicarbonylverbindungen wesentlich reaktionsfreudiger als die Zucker und

Neben anderen Verbindungen konnte im Umsetzungsgemisch sowohl das Hydroxymethylfurfurol (14) als auch das 5-Hydroxymethyl-1-methyl-2-formylpyrrol (15) identifiziert werden. Als gemeinsame Zwischenstufe besitzen beide das 3,4-Didesoxy-1,2-hexoson-3-en (16). Reagiert 16 mit dem Amin weiter zur Schiff'schen Base 17, so kann daraus durch Ringschluß das Formylpyrrol 15 hervorgehen. Der Einfluß von Aminen bzw. Aminosäuren bei der Bildung von Zuckerumwandlungsprodukten wurde nicht nur bei Hexosen eingehend studiert. Verschiedene Arbeitsgruppen unterwarfen Pentosen einer Bräunungsreaktion mit Alkylaminen bzw. Aminosäuren. Kato und Fujimaki ¹²⁾ konnten aus derartigen Umsetzungsgemischen Furfurol und N-substituierte 2-Formyl-pyrrole isolieren. Gemeinsame Zwischenstufe dieser Substanzen ist die 3-Desoxy-pentosulose bzw. das daraus gebildete 3,4-Didesoxy-1,2-pentose-3-en, die den aus Hexosen entstehenden Intermediärprodukten 13 und 16 entsprechen. Umfangreiche Untersuchungen über Umsetzungen von Pentosen mit Aminen wurden in unserem Arbeitskreis von E. Manninger durchgeführt ¹³⁾.

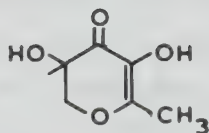
Beim aminkatalysierten Zuckerabbau von Hexosen lassen sich neben verschiedenen Furanaldehyden auch die für die Aromabildung in Lebensmitteln als bedeutend angesehenen Verbindungen wie Maltol (18), Isomaltol (19), und 3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-pyran-4-on (20) nachweisen.



18



19

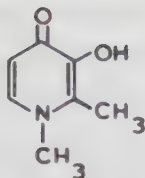


20

Ich habe als Modellreaktion Maltose mit Methylammoniumacetat in wässriger Lösung umgesetzt. Im Grundversuch wurde dabei mehrere Stunden auf Siedetemperatur erhitzt.

Unter alkalischen Bedingungen trat rasch intensive Braunfärbung ein, während sich bei der Reaktion im Neutralen erst nach etwa einer Stunde starke Bräunung zeigte. Anschließend extrahierte ich den lipophilen Anteil aus dem Umsetzungsgemisch mit Methylenchlorid; dabei werden der wässrigen Phase nur teilweise die farbigen Reaktionsprodukte entzogen. Bei längerem Stehenlassen des nach Karamel riechenden, eingeeengten Extraktes fiel eine kristalline Verbindung aus, die leicht gereinigt werden konnte. Eine eingehende Analyse ergab, daß es sich bei der kristallinen Verbindung um 1,2-Dimethyl-3-hydroxy-pyridon-(4) (21) handelte, einer bisher in der Literatur noch nicht beschriebenen Substanz.

Die gleiche Substanz schied sich bei einer Vakuumdestillation (bzw. Sublimation) in der luftgekühlten Vorlage neben öligen Produkten in fester Form ab.



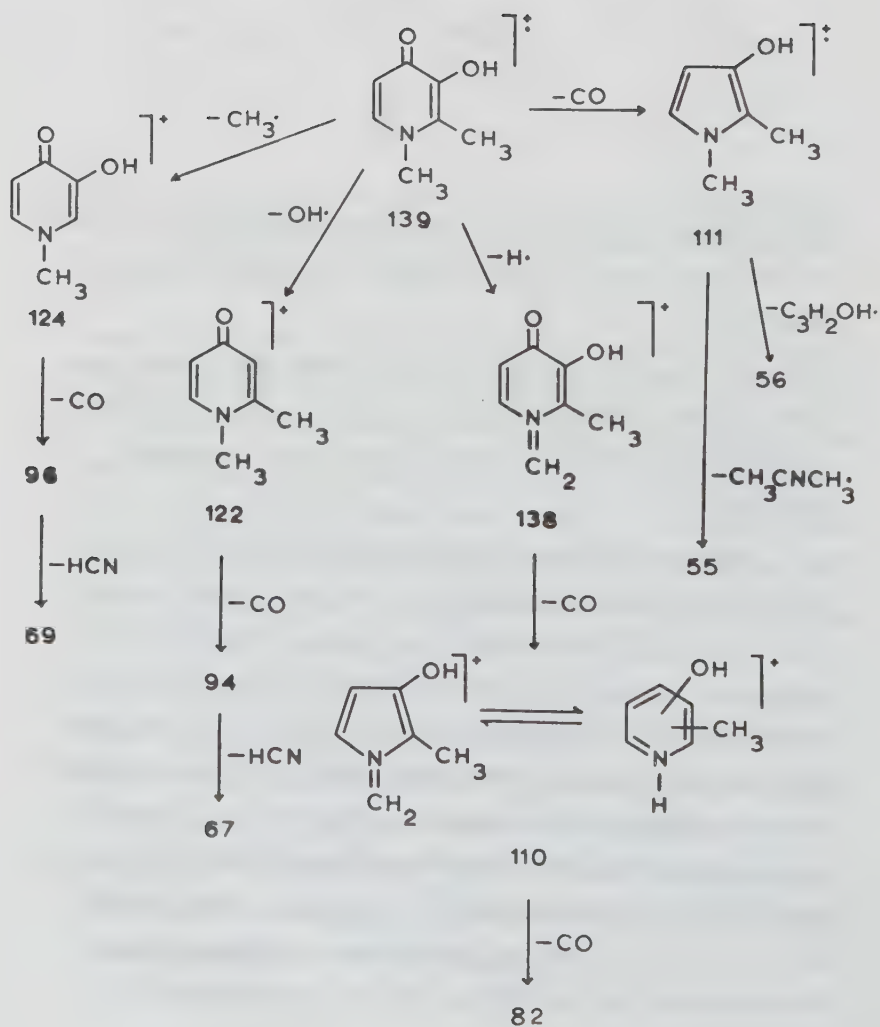
21

Die Struktur ergibt sich aus der Elementaranalyse sowie aus den Spektren. Aus der Elementaranalyse berechnet man die Summenformel $C_7 H_9 NO_2$.

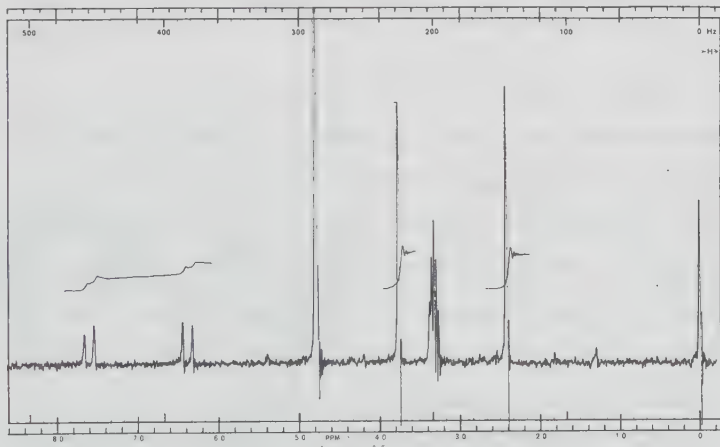
Der Molekülpeak des Massenspektrums zeigt das Molekulargewicht 139 an. Wichtige Strukturmerkmale werden durch Interpretation des massenspektrometrischen Zerfalls erkannt (Schema 2).

Nach Abspaltung eines H-Radikals wird aus dem M^+-1 Ion CO eliminiert, woraus Bruchstück m/e 110 resultiert, dessen hohe Intensität (100 %) durch die Bildung eines sehr stabilen Pyridinringes aus dem zuerst entstandenen Pyrrolring zu erklären ist. Nochmaliger Verlust von CO führt zur Bildung des Ions m/e 82, dessen Bildung auch aus m/e 138 durch eine Retro-Diels-Alder-Reaktion vorstellbar wäre. Diese Reaktion wird beim massenspektrometrischen Abbau von γ -Pyronen ¹⁴⁾ und 4-Thiopyronen ¹⁵⁾ beobachtet, tritt jedoch bei γ -Pyridonen nicht in Erscheinung. Die Abspaltung der CO-Gruppe aus dem Molekülion, die bei Verbindungen mit

Schema 2:

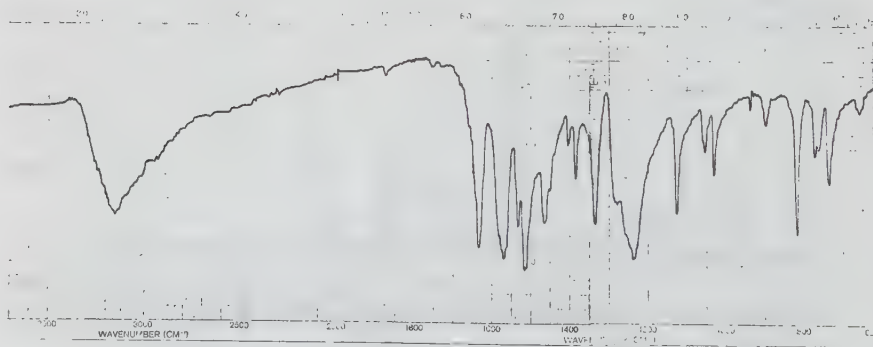


ähnlicher Struktur immer beobachtet wird, führt zum Bruchstück m/e 111, aus dem in der weiteren Folge die Ionen m/e 56 und m/e 55 gebildet werden. Zwei bedeutende Fragmentierungswege, deren Primärbruchstücke durch Verlust eines Hydroxyl- bzw. eines Methylradikals zustande kommen, sind aus dem Schema zu ersehen. Beim massenspektrometrischen Abbau von 1-Methyl-pyridon-(4) ¹⁵⁾ führt die Primärfragmentierung unter Verlust von CO zur Bildung eines Pyrrol-Radikal-Kations, dessen weiterer Zerfall dem des diskutierten Pyridons 21 analog verläuft.



NMR-Spektrum von 21 in Deuteromethanol, TMS als innerer Standard.

Im NMR-Spektrum findet man für die Methylgruppen je ein Singulett bei $\delta = 2.43$ ppm bzw. bei $\delta = 3.76$ ppm; die ringständigen Protonen ergeben je ein Dublett bei $\delta = 6.39$ ppm und bei $\delta = 7.60$ ppm, vergleichbar dem Spektrum des 1-Methyl-pyridons-(4) ¹⁶⁾. Die Kopplungskonstante der ringständigen Protonen beträgt 7.2 Hz. Dieser Wert nimmt eine Mittelstellung zwischen den bei γ -Pyronen und 4-Thiopyronen auftretenden Kopplungskonstanten ein und ist ein Hinweis auf das Vorliegen eines Sechsringes, da benachbarte Protonen in heterocyclischen Fünfringen eine wesentlich geringere Kopplungskonstante aufweisen.



IR-Spektrum von 21

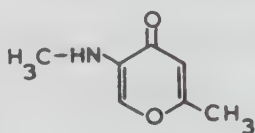
Das IR-Spektrum zeigt starke Banden bei 1630, 1570, 1520 und 1240 cm^{-1} . Eine ähnliche Lage der Absorptionsbanden findet man bei anderen Verbindungen dieses Strukturtyps ¹⁷⁾. Die Bande bei 1630 cm^{-1} ist der Carbonylbande zuzuordnen; ihr Auftreten bei so niedriger Frequenz ist durch den polaren Charakter der Carbonylgruppe bedingt.

21 besitzt im UV-Spektrum Maxima bei 215 nm ($\log \epsilon = 4.2$) und bei 280 nm ($\log \epsilon = 4.1$); beim Maltol liegt das längerwellige Maximum bei $\lambda = 276\text{ nm}$. Eine ähnliche Absorption zeigt auch die Kojisäure ($\lambda_{\text{max}} = 269\text{ nm}$), während 5-Hydroxy-2-hydroxymethyl-1-methyl-pyridon-(4) ein Maximum bei 284 nm aufweist ¹⁸⁾.

Mit FeCl_3 - Lösung gibt 21 eine tiefviolette Färbung. Dieses Verhalten steht in Übereinstimmung mit Beobachtungen, die Heyns und Vogelsang ¹⁹⁾ bei der Untersuchung anderer Hydroxypyrone und -pyridone machten. γ -Pyrone mit einer Hydroxylgruppe in 3-Stellung ergeben mit FeCl_3 tiefrote Färbung, 3-Hydroxy-pyridone-(4) dagegen eine tiefviolette. Wird die Oxygruppe veräthert oder acyliert, so bleibt bei γ -Pyronen die Färbung aus, während γ -Pyridone dann eine orange Färbung hervorrufen. Die Art der Substituenten in 1- und 2-Stellung ist auf die Farbbildung ohne Einfluß.

Auf Grund der aus den Spektren erkannten Strukturmerkmale und der typischen Farbreaktion mit FeCl_3 sollte die Pyridonstruktur der Verbindung 21 hinreichend gesichert sein. Trotzdem stellt sich noch die Frage, ob es sich bei der

isolierten Substanz nicht auch um ein 3-Methylamino-pyron-(4) handeln könnte. Th. Severin und G. Manninger ²⁰⁾ konnten aus einem Reaktionsgemisch von Dihydroxyaceton mit Methylammoniumacetat neben anderen Verbindungen 2-Methyl-5-methylamino-pyron-(4) (22) isolieren.



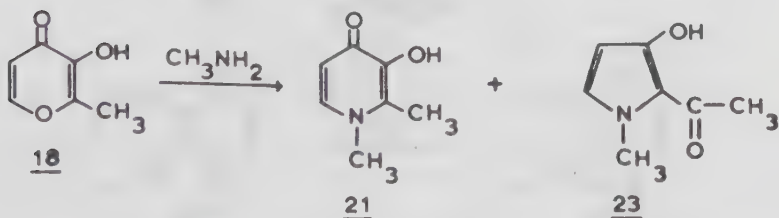
22

Der massenspektrometrische Zerfall von 22 weist deutliche Unterschiede zum Abbau von 21 auf und läßt auf eine Pyronstruktur schließen. Die Ketobande von 22 absorbiert im IR-Bereich bei etwas kürzerer Wellenlänge als das von mir beschriebene Pyridon. Eindeutige Unterschiede im strukturellen Aufbau der beiden Verbindungen erkennt man aus den NMR-Spektren. Während sich die Signale der C-Methylgruppen der beiden Substanzen in ihrer Lage nur geringfügig unterscheiden, treten die beiden N-Methylgruppen bei sehr unterschiedlicher Frequenz auf. Die N-Methylgruppe von 22 erscheint als Dublett bei 2.70 ppm; bemerkenswert ist dabei, daß eine Kopplung mit dem H-Atom am Stickstoff erfolgt. Der Stickstoff des Pyridons 21 dagegen besitzt, wegen des Anteils der Betainstruktur am Grundzustand, partiellen posi-

tiven Charakter. Die Methylgruppe erfährt somit verminderte Abschirmung und erscheint daher als Singulett bei wesentlich höherer Frequenz (3.76 ppm).

Mit FeCl_3 -Lösung zeigte 22 keine Farbreaktion.

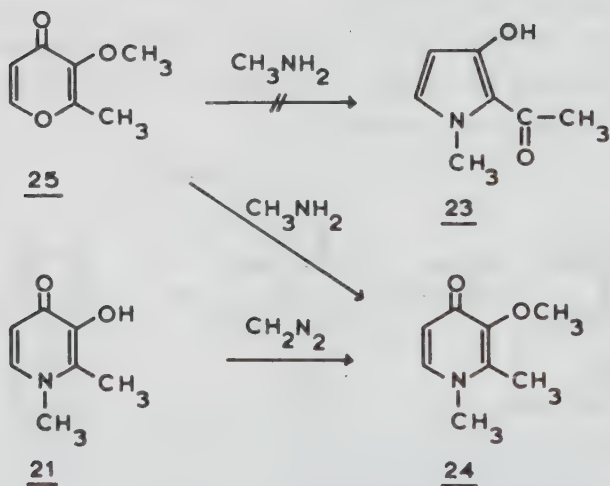
Auf den ersten Blick mag die später ausführlich diskutierte Umsetzung von Maltol mit Methylamin zu 21 als Bestätigung der Struktur erscheinen:



Diese Reaktion ist jedoch nicht eindeutig, denn es könnte dabei auch 2-Acetyl-3-hydroxy-1-methyl-pyrrol (23) entstehen. Wie auch später dargelegt wird, ist die Bildung von 5- und 6-Ringsystemen bei ähnlichen Reaktionen beobachtet worden. Eindeutig als Strukturbestätigung sind dagegen folgende Reaktionswege:

Aus dem isolierten 21 wird mit Diazomethan der O-Methyläther 24 erhalten. Die gleiche Verbindung bildet sich, wenn man Maltolmethyläther (25) mit Methylamin umsetzt. Würde hierbei eine Ringverengung zum Pyrrol 23 eintreten, so müßte dabei die Methoxygruppe als Methanol abgespalten

werden. Gleichzeitig beweist diese Reaktionsfolge, daß ein Methylaminopyridon nicht vorliegen kann.



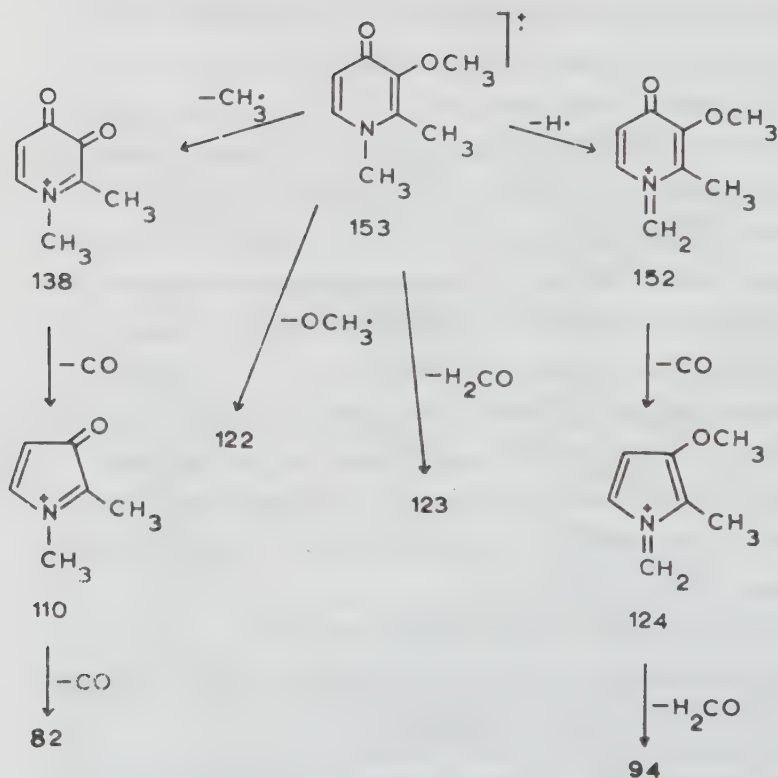
Die Durchführung des Strukturbeweises war schwieriger als erwartet. Die beiden Rohprodukte, die ich auf den verschiedenen Reaktionswegen erhalten konnte, unterwarf ich einer chromatographischen Reinigung auf präparativen Kieselgelplatten. Bei Betrachtung der beiden Chromatogramme unter UV-Bestrahlung zeigte sich, daß sich bei beiden Umsetzungen je ein Hauptprodukt gebildet hatte, die miteinander identisch waren (Zone I, Rf-Wert 0.5 - 0.6). Daneben hatte sich bei der Reaktion von 21 mit Diazomethan ein weiteres Produkt gebildet (Zone II, Rf-Wert 0.1 - 0.2).

Substanz aus Zone I war im Vakuum sublimierbar. In der Vorlage schieden sich Kristalle ab, bei denen es sich aufgrund der Elementaranalyse und der Spektren um das 1,2-Dimethyl-3-methoxy-pyridon-(4) (24) handelte. Die Auswertung der Elementaranalyse bereitete einige Schwierigkeiten; es fiel auf, daß die frisch getrocknete Substanz an Gewicht zunahm. Die Verbindung hat einen Schmelzpunkt von 122°C , wenn die Bestimmung unmittelbar nach der Trocknung erfolgt. Steht das Produkt dagegen längere Zeit an der Luft, so schmilzt es bereits bei $75^{\circ} - 76^{\circ}\text{C}$. Das IR-Spektrum der Verbindung mit Schmelzpunkt $75^{\circ} - 76^{\circ}\text{C}$ zeigt außerdem eine OH-Bande. Danach muß man annehmen, daß 24 ein Mol Wasser aufnimmt. In Übereinstimmung mit der Elementaranalyse ergibt sich somit für 24 die Summenformel $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{NO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$.

Der Molekülpeak (100 %) des Massenspektrums zeigt für 24 das Molekulargewicht 153 an. Im Schema 3 sind die verschiedenen Abbaureaktionen aufgezeigt.

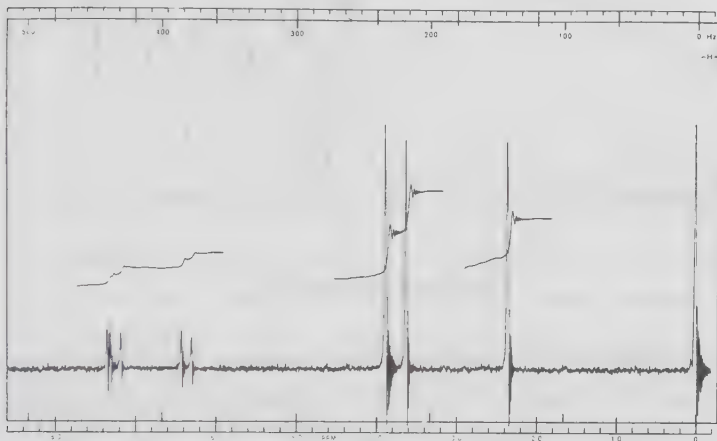
Die Abspaltung von 15 Masseneinheiten und darauffolgende CO-Eliminierung weisen auf den Strukturtyp des Methyläthers hin und führen zum Buchstück m/e 110. Das Ion m/e 82 bildet sich durch Abspaltung von CO aus dem Fragment m/e 110. Alternativreaktionen von Methyläthern sind die Eliminierung von Formaldehyd ($\text{M}^+ - 30$) und die Abspaltung der Methoxygruppe ($\text{M}^+ - 31$), die zu den Bruchstücken m/e 123 und m/e 122 führen. Verlust eines H-Radikals ergibt

Schema 3:



das Bruchstück m/e 152, aus dem sich unter CO-Abspaltung das Fragment m/e 124 bildet. Aus diesem Ion kann Eliminierung der Masse 30, wie bei aromatischen Methyläthern häufig beobachtet wird, zur Bildung des Bruchstücks m/e 94 führen. Überraschenderweise ist eine direkte Abspaltung der CO-Gruppe aus dem Molekülion, wie sie bei Verbindung

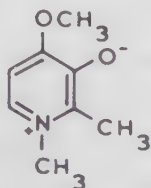
21 stattfindet, beim massenspektrometrischen Abbau von 24 aus dem Spektrum nicht zu ersehen.



NMR-Spektrum von 24 in Deuteriochloroform, TMS als innerer Standard.

Das NMR-Spektrum enthält für die drei Methylgruppen je ein Singulett bei $\delta = 2.36$ ppm, bei $\delta = 3.63$ ppm (N-Methylgruppe) und bei $\delta = 3.89$ ppm (O-Methylgruppe). Zwei Dubletts bei $\delta = 6.36$ ppm und $\delta = 7.25$ ppm weisen auf die an einer Doppelbindung benachbarten Protonen hin; die Kopplungskonstante beträgt 7.4 Hz.

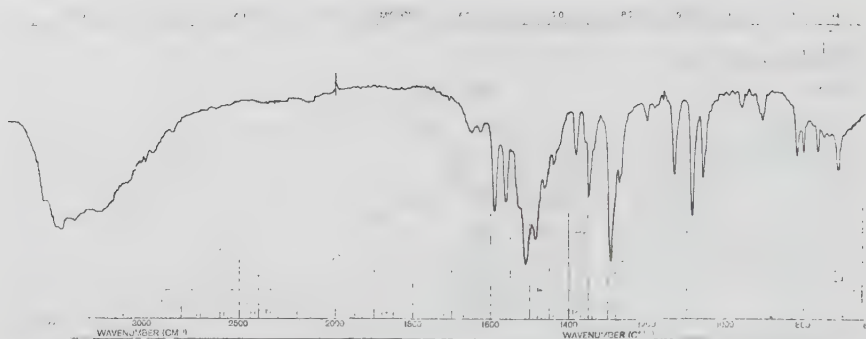
die Verbindung aus Zone II die Struktur eines Pyridinium-
betains 26.



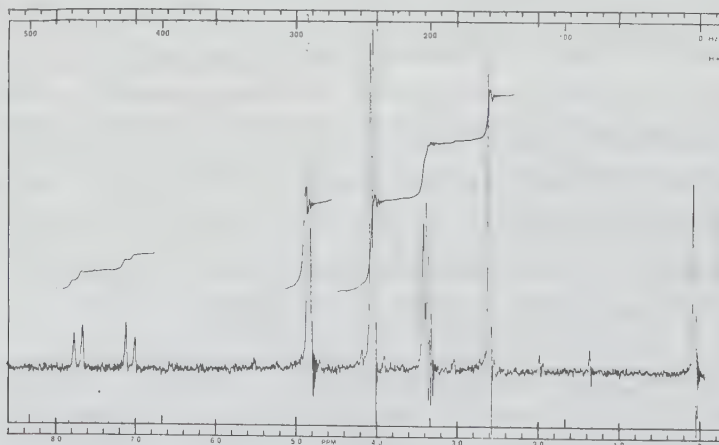
26

Die Elementaranalyse gibt für 26 die Zusammensetzung $C_8H_{11}NO_2$.
Das Massenspektrum von 26 ist dem von 24 weitgehend gleich.
Die Bruchstücke, die man beim massenspektrometrischen Abbau
von 24 beobachten konnte, treten im Spektrum von 26 mit den-
selben Intensitäten wieder auf. Dieses überraschende Verhal-
ten erklärt sich folgendermaßen: Im Massenspektrometer wer-
den die zur Messung gelangenden Verbindungen sehr hoher Ener-
gie ausgesetzt. Unter diesen außergewöhnlichen Bedingungen
kann bei 26 leicht eine Umlagerung der Methylgruppe vom Sau-
erstoff am C-4 Atom zum Sauerstoff in 3-Stellung erfolgen,
woraus die gleichen massenspektrometrischen Abbaureaktionen
für die Verbindungen 24 und 26 resultieren.

Das Fehlen einer Absorptionsbande im infraroten Bereich von
 $1600 - 1800\text{ cm}^{-1}$ schließt das Vorliegen einer Ketobande in
26 aus. Dagegen treten im Bereich von $1600 - 1500\text{ cm}^{-1}$ drei
Banden auf, wie sie für aromatische Verbindungen mit Benzol-
oder Pyridinring charakteristisch sind.



IR-Spektrum von 26



NMR-Spektrum von 26 in Deuteriomethanol, TMS als innerer Stand.

Im NMR-Spektrum finden sich für die Methylgruppen je ein Singulett bei $\delta = 2.55$ ppm, bei $\delta = 4.02$ ppm (N-Methylgruppe) und bei $\delta = 4.05$ ppm (O-Methylgruppe). Während das Signal der O-Methylgruppe im Vergleich zu dem der Verbindung 24 nur geringfügig nach tieferem Feld verschoben ist, treten die Protonen der N-Methylgruppe, wegen der positiven Ladung am Stickstoffatom, bei tieferem Feld in Resonanz als die entsprechenden Protonen von 24. Die Ringwasserstoffatome ergeben je ein Dublett bei $\delta = 7.06$ ppm und bei $\delta = 7.72$ ppm mit einer Kopplungskonstante von 7.0 Hz.

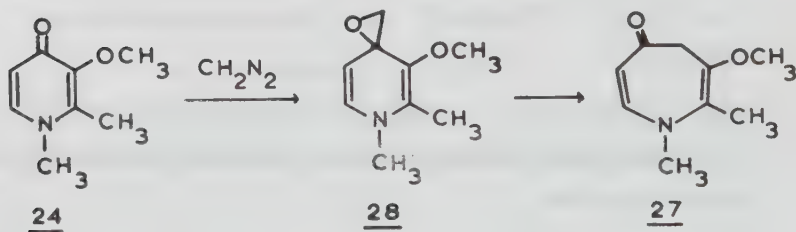
Mit 26 gibt FeCl_3 - Lösung eine orange Farbe, womit das Vorliegen einer Hydroxylgruppe mit Sicherheit ausgeschlossen werden kann.

Die Bildung von 26 könnte man sich folgendermaßen vorstellen: Säureamide bzw. Lactame werden mit Diazomethan sowohl am N- wie auch am O-Atom methyliert, wenn am Stickstoffatom ein acides H-Atom vorhanden ist. Die Verbindung 21 ist ein vinyloges Säureamid, an dessen Stickstoffatom sich kein Proton mehr befindet. Methylierung mit Diazomethan am Carbonylsauerstoffatom kann wegen der Möglichkeit der Abspaltung eines Protons von der Hydroxylgruppe in 3-Stellung und der gleichzeitigen Ausbildung der Betain-Struktur stattfinden.

Bei der Umsetzung von 21 mit Diazomethan konnte neben den beschriebenen Verbindungen 24 und 26 noch eine dritte Sub-

stanz in sehr geringer Menge isoliert werden, bei der es sich aufgrund des Massenspektrums um einen heterocyclischen 7-Ring 27 handeln könnte.

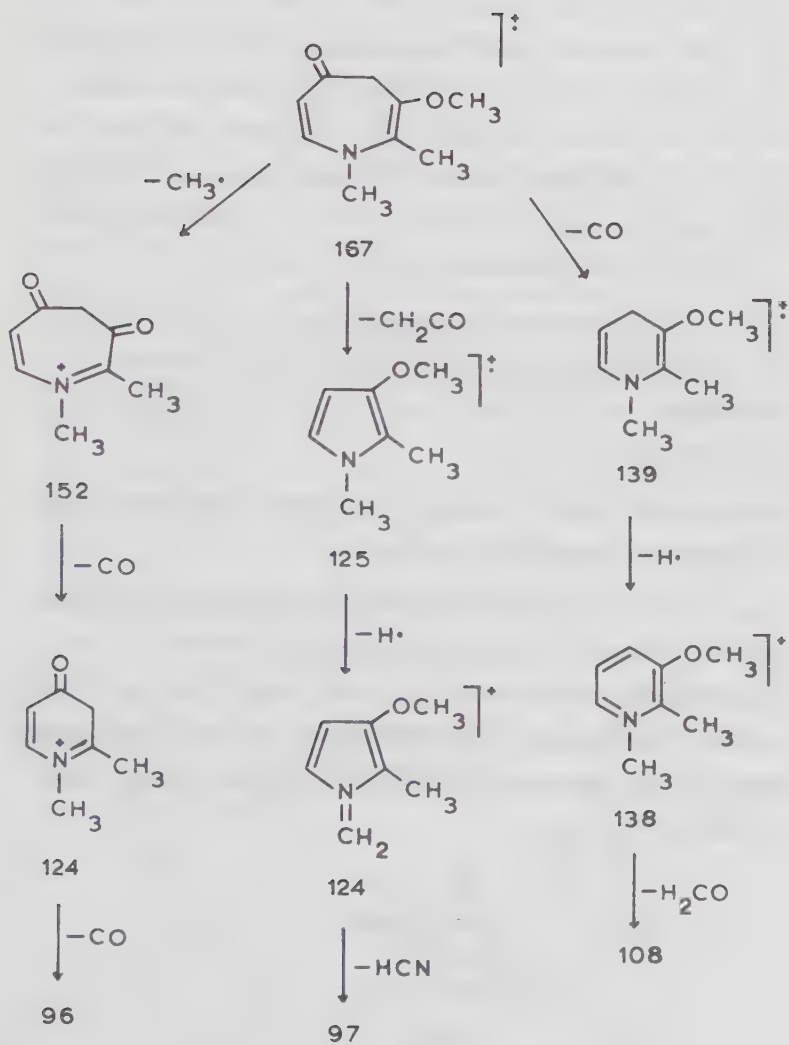
Die Reaktion von Diazomethan mit alicyclischen Ketonen führt zur Bildung von Epoxiden und zur Ringerweiterung. Heterocyclen, die eine Ketogruppe enthalten, könnten im Prinzip in gleicher Weise reagieren²¹⁾.



Aus dem Pyridon 24 sollte danach über das Epoxid 28 die 7-Ring-Verbindung 27 zugänglich sein.

Hinweise auf die Struktur eines heterocyclischen 7-Ringes ergeben sich aus der Interpretation des Massenspektrums (Schema 4):

Schema 4:

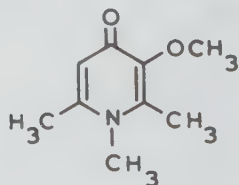


Der Molekülpeak zeigt für 27 das Molekulargewicht 167 an. Abspaltung von CH_2CO aus dem Molekülion führt zum Bruchstück m/e 125, aus dem sich durch Verlust eines H-Radikals und anschließender **HCN-Eliminierung** die Ionen m/e 124 und m/e 97 bilden. Aus einem weiteren Zerfallsweg geht durch Verlust von CO aus dem Molekülion das Fragmention m/e 139 hervor, aus dem durch Wasserstoffabspaltung ein stabiles Pyridin-Kation gebildet wird (m/e 138), woraus durch Verlust von CH_2O das Bruchstück m/e 108 entsteht.

Eine weitere bedeutende Abbaureaktion, die durch Verlust von 43 Masseneinheiten ($M^+ - 15 - 28$) aus dem Molekülion zum Fragmention m/e 124 führt, deutet auf das Vorliegen eines Methyläthers hin.

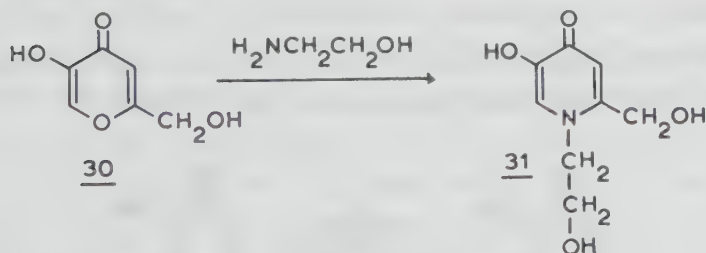
Die Struktur dieses Nebenproduktes kann jedoch noch nicht als gesichert angesehen werden.

Neben der Bildung einer 7-Ring-Verbindung hätte auch eine C-Methylierung an der Doppelbindung des Pyridons 21 mit Diazomethan stattfinden können. Wäre dabei 3-Methoxy-1,2,6-trimethyl-pyridon-(4) (29) entstanden, so würde sich dieses Pyridon beim massenspektrometrischen Zerfall deutlich von 27 unterscheiden.

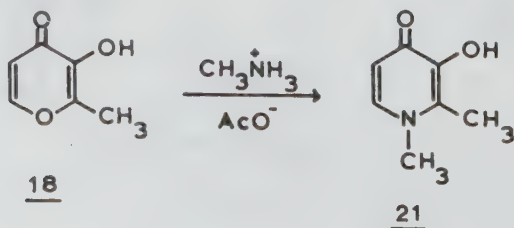


29

Es stellt sich die Frage, ob die Bildung von 21 aus Maltose über Maltol (18) als Zwischenstufe verläuft. Eingehende Untersuchungen über Reaktionen einiger Pyron-Derivate mit verschiedenen Aminen wurden von mehreren Arbeitskreisen ²²⁾ ausgeführt. J.W. Armit und T.J. Nolan ²³⁾ gelang es nicht aus Kojisäure (30) und konz. Ammoniak das zugehörige γ -Pyridon darzustellen. Sie konnten dagegen Methyläther der Kojisäure mit Ammoniak erfolgreich zu dem entsprechenden Pyridon umsetzen. Heyns und Vogelsang ²⁴⁾ konnten später 5-Hydroxy-2-hydroxymethyl-pyridon-(4) aus Kojisäure und Ammoniak synthetisieren, doch ließ sich die Verbindung nur sehr umständlich von den zahlreich gebildeten Nebenprodukten abtrennen. Analog erhielten sie aus 30 und Äthanolamin das N-(2-Hydroxy-äthyl)-5-hydroxy-2-hydroxymethyl-pyridon-(4) (31) in allerdings nur 16 proz. Ausbeute. Wesentlich höhere Ausbeuten waren auch hier wieder mit dem Methyläther der Kojisäure zu erzielen.



Versuche, aus Kojisäure bzw. deren Äther mit Glycin bzw. dem Glycinäthylester das entsprechende Pyridon darzustellen, schlugen fehl. Erst die Reaktion des Methyläthers der Kojisäure mit Glycin, in Gegenwart einer äquivalenten Menge einer Base, führte zu dem entsprechenden Pyridon. Der Versuch wurde bei 120°C im Bombenrohr durchgeführt; die Ausbeute betrug dabei 18 Prozent. Von einer japanischen Arbeitsgruppe ²⁵⁾ wurden aus natürlichen Maltolglycosiden durch Umsetzung mit primären Aminen die entsprechenden 3-D-Glucosyloxy-2-methyl-4-pyridone dargestellt und weiter durch Säurehydrolyse in die Aglycone umgewandelt. Aus den bisher veröffentlichten Arbeiten konnte man also folgern, daß 3-Alkoxy-pyrone mit primären Aminen zu den entsprechenden Pyridonen umgesetzt werden können. 3-Hydroxy-pyrone ergeben diese Reaktion jedoch nur in sehr schlechter Ausbeute. Alle Umsetzungen erfordern stark basisches Milieu. Danach war es unwahrscheinlich anzunehmen, daß das von mir isolierte Pyridon 21 aus Maltol als Zwischenstufe gebildet wird, zumal es auch unter neutralen Reaktionsbedingungen isoliert werden konnte. Ich habe diese Frage experimentell näher geprüft:



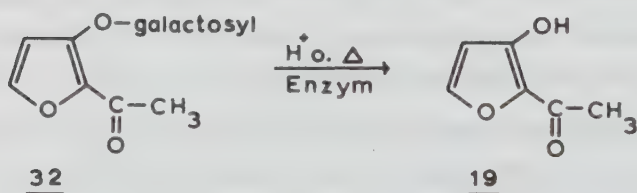
Ich erhitzte Maltol mit Methylamin in basischer, neutraler und schwach saurer, wässriger Lösung auf Siedetemperatur und konnte nach einer Reaktionszeit von 4 - 5 Stunden in allen Fällen das Pyridon 21 erhalten. Bei der Umsetzung im Basischen betrug die Ausbeute 55 %; im Neutralen und schwach Sauern konnte ich 21 in etwas geringerer Menge isolieren. Dieser Befund ist von besonderem Interesse, da in Lebensmitteln mit neutralen oder schwach sauren, nicht aber mit alkalischen Reaktionsbedingungen zu rechnen ist.

Diese Untersuchungen beweisen allerdings nicht, daß bei der Reaktion von Maltose mit Methylammoniumacetat zu 21 Maltol als Zwischenstufe anzusehen ist. Unter den Produkten konnte ich nur geringe Mengen Maltol nachweisen. Weitere mögliche Bildungsweisen für 21 werden später diskutiert.

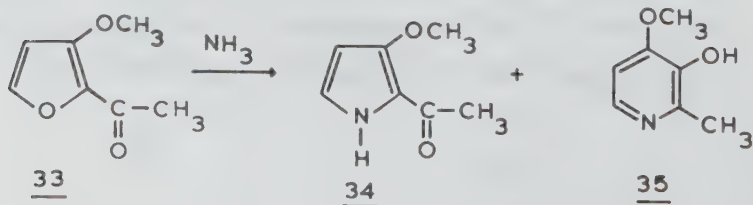
Es stellt sich in Bezug auf die Pyridonbildung die Frage, ob Maltose als Ausgangsverbindung eine Sonderstellung einnimmt, oder ob auch aus anderen Mono- und Disacchariden dasselbe Produkt entstehen kann.

Ich habe daher Lactose in gleicher Weise wie Maltose mit Methylammoniumacetat umgesetzt. Auch hier ergab sich wieder, daß das Pyridon 21 unter den mit organischen Lösungsmitteln extrahierbaren Reaktionsprodukten als Hauptkomponente auftritt. Die Isolierung von 21 gestaltete sich infolge der hohen Kristallisationsneigung als einfach.

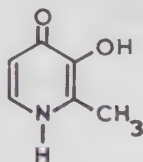
Wie Hodge und Nelson ²⁶⁾ fanden, reagiert Lactose mit Piperidinacetat in beträchtlicher Menge zum Isomaltol- β -D-galactopyranosid (32), aus dem durch Säurespaltung, Pyrolyse oder enzymatische Spaltung Isomaltol (19) gebildet wird.



Erstmals wurde 19 als Bestandteil der braunen Kruste von Milchbrot und aus dem Wasserdampfdestillat von Bisquitmehl neben Maltol von A. Backe ²⁷⁾ isoliert. Erst lange nach seiner Entdeckung konnte 19 in seiner Struktur durch Arbeiten von B.E. Fisher und J.E. Hodge ²⁸⁾ aufgeklärt werden. Die Autoren erhitzten Isomaltolmethyläther (33) mit Ammoniak mehrere Stunden im Autoclaven auf 140°C. Aus dem Umsetzungsgemisch konnten 2-Acetyl-3-methoxy-pyrrol (34) sowie 3-Hydroxy-4-methoxy-2-methyl-pyridin (35) isoliert werden.



Durch Kochen von Verbindung 35 in Bromwasserstoffsäure gelangte man zum 3-Hydroxy-2-methyl-pyridon-(4) (36).

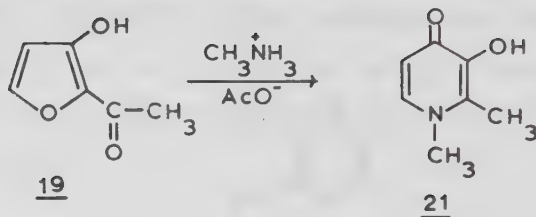


36

Bemerkenswert bei diesen Versuchen ist die hohe Ausbeute an 2-Acetyl-3-methoxy-pyrrol (24 %) gegenüber der geringen Menge an 3-Hydroxy-4-methoxy-2-methyl-pyridin (1,2 %). Von der genannten Arbeitsgruppe wurden keine Umsetzungen von nicht derivatisiertem Isomaltol mit Ammoniak bzw. primären Aminen ausgeführt.

Im weiteren Verlauf meiner Arbeit dehnte ich meine Untersuchungen auf Reaktionsprodukte aus der Umsetzung von Isomaltol mit verschiedenen Aminkomponenten aus. Man kann annehmen, daß das von mir isolierte Pyridon 21 durch Umsetzung von Isomaltol mit Methylamin entstehen kann.

Ich erhielt bei der Reaktion von Isomaltol mit Methylammoniumacetat 21 in einer Ausbeute von 57 %.

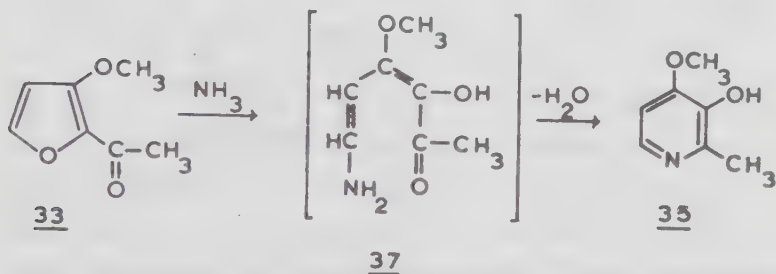


Die Ausbeute ist sowohl unter neutralen wie auch unter alkalischen Reaktionsbedingungen sehr hoch. Das bisher nicht bekannte 2-Acetyl-3-hydroxy-1-methyl-pyrrol (23) konnte dabei nicht gefunden werden.

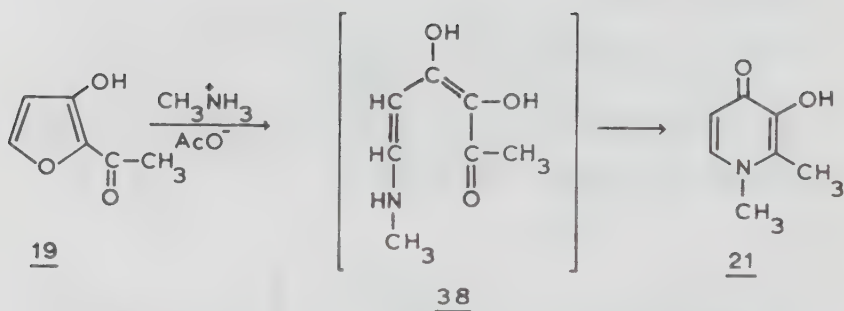
Vergleicht man die Ergebnisse, die Fisher und Hodge bei der Ammonolyse von methyliertem Isomaltol erhielten, mit meinen, bei der Reaktion von nichtderivatisiertem Isomaltol mit Methylammoniumacetat erhaltenen Befunden, so ist vor allem der große mengenmäßige Unterschied bei der Bildung des Hauptproduktes beachtenswert. Während Fisher und Hodge das Pyrrol 34 als Hauptkomponente erhielten, konnte bei der Umsetzung von Isomaltol mit Methylammoniumacetat lediglich 21 isoliert werden.

Leditschke ²⁹⁾ konnte zeigen, daß man allgemein aus α -Furylketonen durch Erhitzen mit Ammoniak die entsprechenden 2-substituierten 3-Hydroxypyridine gewinnen kann. Erhitzt man z.B. 2-Furylmethylketon in wässrigem Ammoniak, so wird 3-Hydroxy-2-methyl-pyridin in 47 %iger Ausbeute

isoliert; daneben bildet sich in geringer Menge 2-Acetylpyrrol. Im Gegensatz dazu stehen die Ergebnisse der Untersuchung von Fisher und Hodge, die, wie erwähnt, ein Pyrrol als Hauptprodukt isolierten; den geringen Anteil an Pyridinderivat erklärte man folgendermaßen:

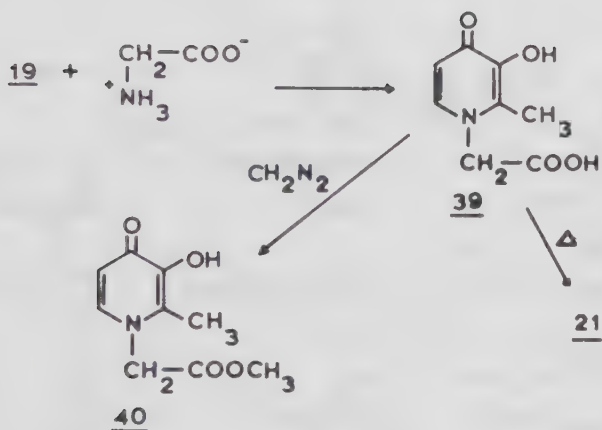


Bei der Bildung von 3-Hydroxy-4-methoxy-2-methyl-pyridin (35) aus Isomaltolmethyläther (33) mit Ammoniak nimmt man als Zwischenprodukt 37 an. Der Elektronenschub vom Sauerstoff der Methoxygruppe vermindert den elektrophilen Charakter des Carbonylkohlenstoffatoms. Diese herabgesetzte Carbonyllaktivität wirkt sich ungünstig auf einen Ring-schluß zum Pyridin aus. Aus diesem Grunde sollte mit einer geringeren Ausbeute an 35 zu rechnen sein. Bei dem von mir ausgeführten Versuch wurde freies Isomaltol eingesetzt.



Isomaltol besitzt Säurecharakter und stellt formal gesehen eine vinyloge Carbonsäure dar. Aus diesem Grunde wäre es verständlich, daß die Carbonylgruppe des Zwischenproduktes 38 nur in geringem Maße mit der nucleophilen Aminogruppe zum Pyridon reagiert. Danach hätte man aber bei der Umsetzung von Isomaltol mit Methylamin vorwiegend die Bildung des 2-Acetyl-3-hydroxy-1-methyl-pyrrols (23) erwarten sollen. Tatsächlich entstand in überwiegender Menge das Pyridon (21). Eine plausible Erklärung für diese Ergebnisse kann aufgrund des vorliegenden experimentellen Materials noch nicht gegeben werden.

Ich erhitzte daher Isomaltol mit Glycin (als Natrium-Salz) mehrere Stunden in wässriger Lösung auf Siedetemperatur. Aus dem wässrigen Reaktionsgemisch konnte 1-Carboxymethyl-3-hydroxy-2-methyl-pyridon-(4) (39) isoliert werden. Verbindung 39 wurde zur Strukturermittlung einigen weiteren Reaktionen unterworfen.

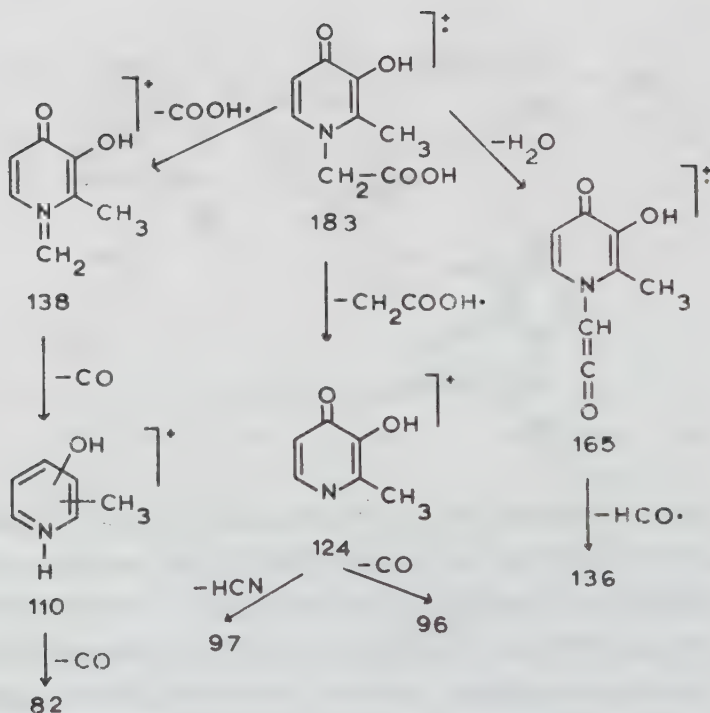


Durch Einwirkung von Diazomethan konnte 39 zum 1-Carbmethoxymethyl-3-hydroxy-2-methyl-pyridon-(4) (40) umgesetzt werden. Bekanntlich lassen sich Carboxylgruppen leichter mit Diazomethan verestern, als Enole veräthern. Die Mengenverhältnisse wurden so gewählt, daß nur Veresterung stattfand. Erhitzt man 39 im Vakuum auf $140^\circ - 150^\circ\text{C}$, so decarboxyliert die Carbonsäure und 1,2-Dimethyl-3-hydroxy-pyridon-(4) (21) sublimiert in die Vorlage.

Aus der Elementaranalyse ergibt sich für 39 die Zusammensetzung $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_4$.

Der Molekülpeak des Massenspektrums zeigt für 39 das Molekulargewicht 183 an.

Schema 5:



Der Abbau im Massenspektrometer ist aus dem Schema 5 ersichtlich. Abspaltung des $\text{COOH}\cdot$ -Radikals aus dem Molekülion führt zu dem stabilen Kation m/e 138, aus dem im nächsten Schritt unter Verlust von CO das Bruchstück m/e 110 gebildet wird. Nochmalige Eliminierung von CO läßt das Fragmentation m/e 82 entstehen. Das Ion m/e 124 resultiert aus dem Verlust von 59 Masseneinheiten ($\text{CH}_2\text{COOH}\cdot$ -Radikal)

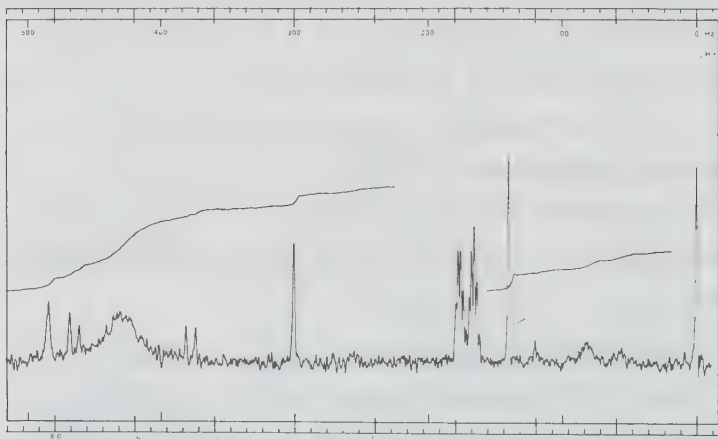
aus dem Molekülion. Abspaltung von HCN führt aus m/e 124 zum Ion m/e 97; wird dagegen aus dem Ion m/e 124 unter CO-Eliminierung zunächst Fragment m/e 96 gebildet, so entsteht daraus unter Verlust von HCN Bruchstück m/e 69. Die beschriebenen Primärfragmentierungen eines COOH- bzw. CH_2COOH -Radikals aus dem Molekülion weisen auf das Vorliegen einer Carbonsäure hin. Auch der Verlust von Wasser aus dem Molekülion ist für diese Verbindungsklasse charakteristisch und führt im vorliegenden Falle zum Ion m/e 165, aus dem durch Abspaltung von CHO das durch seine hohe Intensität auffallende Bruchstück m/e 136 gebildet wird. Im unteren Massenzahlenbereich treten Fragmente auf, wie man sie schon beim Zerfall von Verbindung 21 beobachten konnte.

Das IR-Spektrum zeigt eine breite Bande bei 1640 cm^{-1} ; die Bande der Ringcarbonylgruppe wird von der Säurebande überlagert, wodurch im Spektrum eine breite Bande zustande kommt.



IR-Spektrum von 22

Im NMR-Spektrum erscheinen zwei Singulettts bei $\delta = 2.33$ ppm und bei $\delta = 5.00$ ppm. Auf Grund der Lage und der Integration der Signalfächen, ist das Singulett bei $\delta = 5.00$ ppm der Methylengruppe zuzuordnen. Die beiden benachbarten Ringprotonen spalten zu zwei Dubletts bei $\delta = 6.29$ ppm und bei $\delta = 7.74$ ppm auf. Die Kopplungskonstante beträgt 7.4 Hz.



NMR-Spektrum von 39 in Deuterodimethylformamid,
TMS als innerer Standard.

Das UV-Spektrum ist dem des Pyridons 21 sehr ähnlich. Die Maxima sind nur ganz geringfügig zum längerwelligen Bereich hin verschoben ($\lambda_{\text{max}} = 217$ nm, 282 nm).

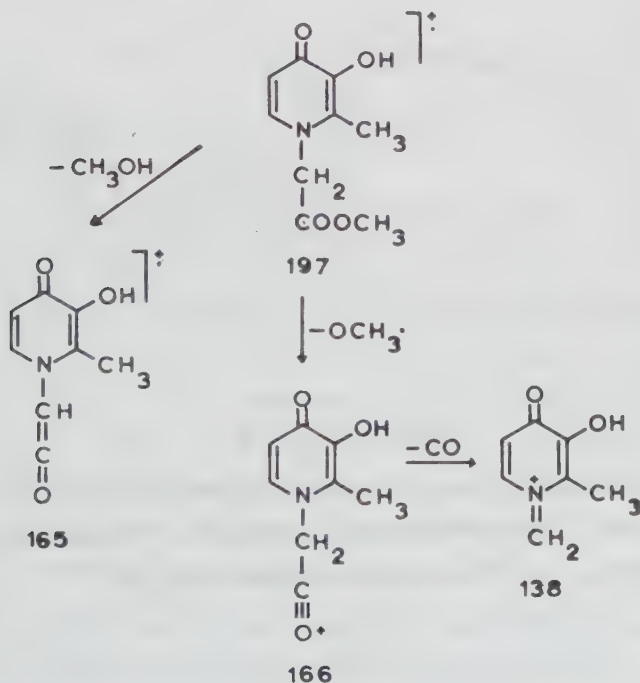
Mit FeCl_3 -Lösung gibt 39 die für die 3-Hydroxypyridone

charakteristische violette Farbreaktion.

Die Struktur des Methylierungsproduktes 4o wird ebenfalls durch seine Spektren belegt.

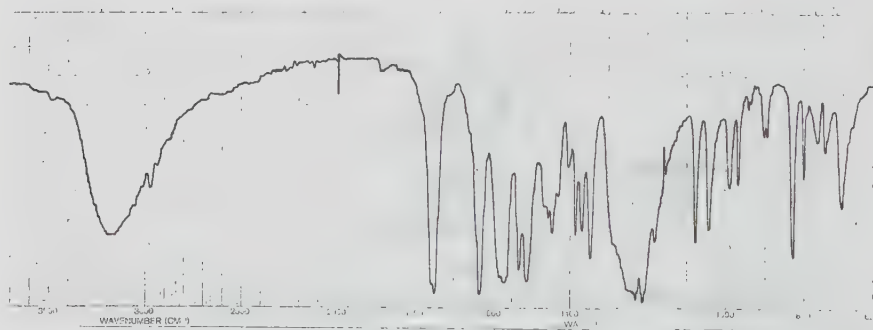
Aus dem Molekülpeak ergibt sich für 4o das Molekulargewicht 197. Der massenspektrometrische Zerfall ist aus dem Schema 6 ersichtlich.

Schema 6:



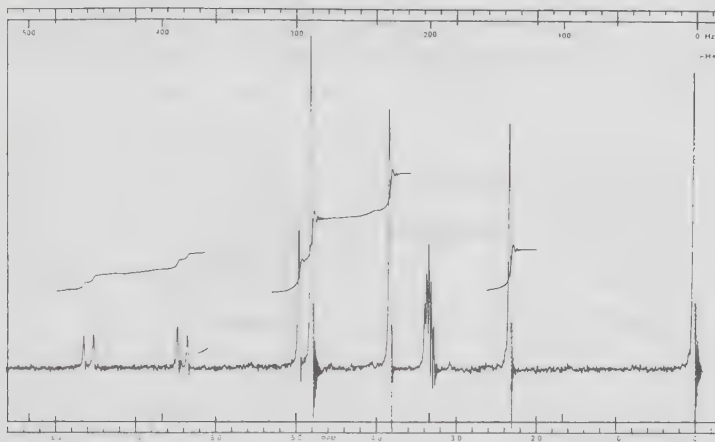
Die Abspaltung eines CH_3O -Radikals aus dem Molekülion führt zum Bruchstück m/e 166, aus dem durch darauffolgende

CO-Eliminierung das Ion m/e 138 entsteht. Dieser Zerfallsweg wird bei Estern immer beobachtet. Als häufige Konkurrenzreaktion zur Alkoxyabspaltung tritt bei Estern der Verlust von Alkohol in Erscheinung; dies führt in dem vorliegenden Fall zum Bruchstück m/e 165 ($M^+ - \text{MeOH}$). Der weitere Abbau des Ions m/e 138 verläuft wie bei Verbindung 21 bereits ausführlich beschrieben.



IR-Spektrum von 40

Im IR-Spektrum liegt die Bande der Hydroxylgruppe bei 3180 cm^{-1} . Das Auftreten einer Bande bei 1750 cm^{-1} zeigt eindeutig, daß Veresterung stattgefunden hat.



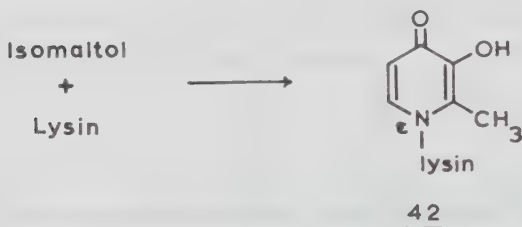
NMR-Spektrum von 40 in Deuteromethanol, TMS als innerer Standard.

Das NMR-Spektrum weist drei Singuletts auf; das Signal bei $\delta = 3.79$ ppm entspricht den Protonen der Methoxygruppe des Esters; die Methylengruppe des Glycinrestes erscheint als Signal bei $\delta = 4.96$ ppm. Die beiden ringständigen Protonen zeigen sich im Spektrum durch zwei Dubletts bei $\delta = 6.41$ ppm und bei $\delta = 7.57$ ppm, wieder mit der typischen Kopplungskonstante von 7.4 Hz.

Die tiefviolette Färbung, die 40 mit dem FeCl_3 -Reagens gibt, beweist zusätzlich, daß nur Methylierung der Carboxylgruppe stattgefunden hat.

Auf Grund der vorstehend diskutierten Ergebnisse bei der

Reaktion von Isomaltol mit Methylamin bzw. mit Glycin konnte man erwarten, daß sich aus Isomaltol und Lysin das ϵ -N-(1,4-Dihydro-3-hydroxy-2-methyl-4-oxo-1-pyridyl)-L-Lysin (42) bilden würde.



Daneben wäre auch der Einbau der α -Aminogruppe des Lysins in das erwartete Pyridongerüst möglich, jedoch sprechen sterische Faktoren für eine Bevorzugung der ϵ -Aminogruppe. Um diese Schwierigkeit zu umgehen, setzte ich in einem weiteren Versuch Isomaltol mit N- α -Acetyl-Lysin um. Zunächst wurde Lysin mit Isomaltol in wässriger Lösung mehrere Stunden auf 100°C erhitzt. Das wässrige Reaktionsprodukt extrahierte ich anschließend erschöpfend mit Methylenchlorid. Die wässrige Phase wurde auf Kieselgelplatten chromatographiert. Dabei zeigten sich 3 Zonen, wovon die Zone II (Rf-Wert = 0.3 - 0.4) nach Besprühen mit FeCl₃-Lösung eine tiefviolette Färbung gibt; ein Hinweis auf die Bildung des Hydroxypyridons 42. Das UV-Spektrum der eluierten Substanz zeigt die für 3-Hydroxypyridone charak-

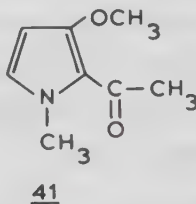
teristischen Absorptionsmaxima bei $\lambda = 220$ nm und bei $\lambda = 280$ nm. Wegen seiner Schwerflüchtigkeit ließ sich von diesem Lysinderivat kein Massenspektrum anfertigen. Die Verbindung konnte noch nicht ganz frei von Verunreinigungen isoliert werden. Eine eindeutige Strukturzuordnung wird erst nach weiteren Reinigungsverfahren und aus den Ergebnissen zusätzlicher spektrometrischer Untersuchungen getroffen werden können.

Die Umsetzung von Isomaltol mit N- α -Acetyl-Lysin, führte unter den vorher beschriebenen Bedingungen zur Bildung eines einzigen Hauptproduktes. Die Substanz konnte allerdings bisher nicht rein erhalten werden.

Da ich bei der Umsetzung von Isomaltol mit Methylammoniumacetat nicht das erwartete 2-Acetyl-3-hydroxy-1-methylpyrrol (22) isolieren konnte, versuchte ich die Substanz auf andere Weise zu gewinnen. Isomaltolmethyläther (33) wurde einige Stunden mit Methylamin in wässriger Lösung gekocht. Das wässrige Umsetzungsprodukt extrahierte ich anschließend mit Methylenchlorid und unterwarf den organischen Extrakt einer DC-Analyse auf Kieselgel.

Das Dünnschichtchromatogramm zeigt unter UV-Bestrahlung drei deutlich voneinander getrennte Zonen. Zone II (Rf-Wert = 0.1 - 0.2) enthält das Pyridiniumbetain (26); Zone I (Rf-Wert 0.3 - 0.5) das Pyridon (21). Die Identifizierung der Verbindungen 21 und 26 erfolgte durch Farbreaktion mit FeCl_3 - Lösung und durch IR-Spektroskopie.

Der Verbindung aus Zone III (Rf-Wert = 0.8 - 0.9) kann aufgrund der Spektren die Struktur eines 2-Acetyl-3-methoxy-1-methyl-pyrrols (41) zugeordnet werden.

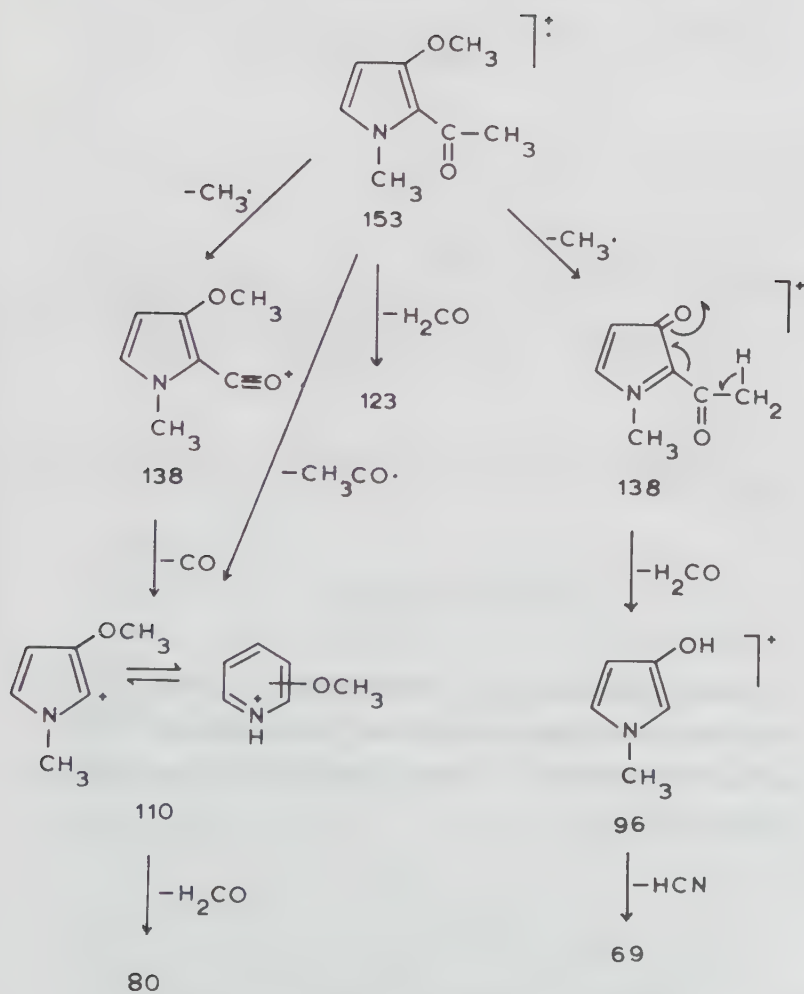


Aus der Elementaranalyse ergibt sich für 41 die Zusammensetzung $C_8H_{11}NO_2$.

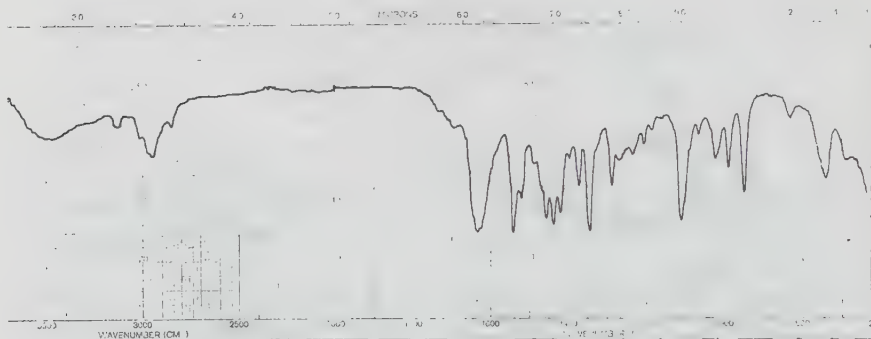
Der Molekülpeak des Massenspektrums zeigt für 41 das Molekulargewicht 153 an.

Hinweise auf die Struktur ergeben sich aus dem Massenspektrum (Schema 7). Verlust eines CH_3 -Radikals aus dem Molekulation führt zum Bruchstück m/e 138, wobei bevorzugt die Methylgruppe des Acetylrestes und des Äthers austreten. Wird zunächst die Methylgruppe des Acetylrestes eliminiert, so entsteht durch darauffolgenden CO-Austritt das Ion m/e 110. Durch Abspaltung der Methylgruppe am Äthersauerstoff bildet sich das Fragment m/e 138, aus dem nach Wasserstoffumlagerung unter Verlust von Keten das Bruchstück m/e 96 entsteht. Die Eliminierung von 30 Masseneinheiten aus dem Molekulation führt zum Ion m/e 123 und ist ein Hinweis auf das Vorliegen eines aromatischen Methyläthers.

Schema 7:

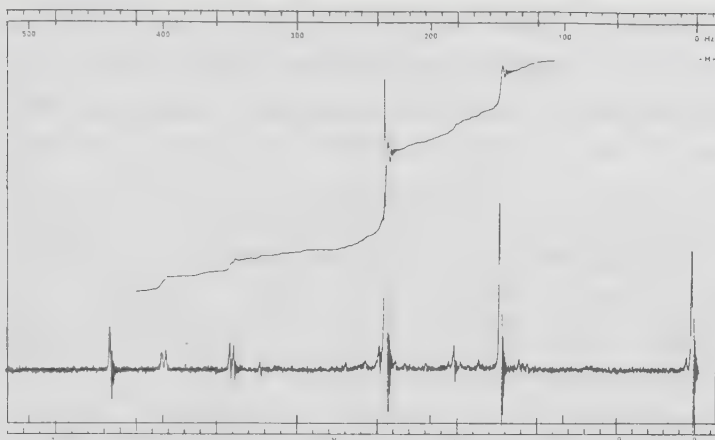


Die gleiche Reaktion ist auch beim massenspektrometrischen Abbau von Anisol zu beobachten. Die Bruchstücke im unteren Massenbereich treten auch bei ähnlichen, N-alkylierten Pyrrolen im Massenspektrum auf.



IR-Spektrum von 41

Im IR-Spektrum zeigt sich eine Ketobande bei 1630 cm^{-1} , die wegen der Konjugation mit dem Äthersauerstoff und Aminostickstoff erst in diesem kurzen Wellenlängenbereich auftritt.



NMR-Spektrum von 41 in Deuterochloroform, TMS als innerer Standard.

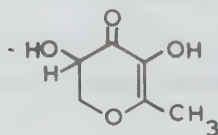
Im NMR-Spektrum treten zwei Singulettts auf. Das Signal bei $\delta = 2.43$ ppm ist den Protonen der Acetylgruppe zuzuordnen, während die O-Methyl- und die N-Methylgruppe an derselben Stelle erscheinen ($\delta = 3.90$ ppm). Die beiden Signale der ringständigen Protonen spalten zu zwei Dubletts bei $\delta = 5.81$ ppm und bei $\delta = 6.66$ ppm auf. Ihre Kopplungskonstante von 3.0 Hz ist charakteristisch für derartige Pyrrolring-Protonen.

Bemerkenswert an der geschilderten Umsetzung ist, daß sich aus Isomaltolmethylläther auch das Pyridon 21 bildete; unter den gewählten Reaktionsbedingungen fand somit eine Ätherspaltung statt.

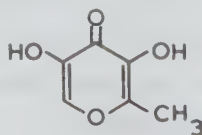
Versuche zur Umwandlung des 2-Acetyl-3-methoxy-1-methyl-pyrrols (41) zum 2-Acetyl-3-hydroxy-1-methyl-pyrrol (23) konnten von mir noch nicht erfolgreich abgeschlossen werden.

Das Pyridon 21 konnte bei der Umsetzung der Disaccharide Maltose und Lactose mit Methylanmoniumacetat in relativ hoher Ausbeute isoliert werden. Es war zu prüfen, ob auch aus Monosacchariden dieses Pyridon gebildet wird. Glucose wurde in gleicher Weise wie Maltose bzw. Lactose mit Methylanmoniumacetat umgesetzt. Aus dem wässrigen Reaktionsgemisch konnte 21 in etwas geringerer Menge als bei der Umsetzung der Disaccharide gewonnen werden. Dieser Befund ist von Interesse, da bisher Maltol (18) nicht bei Umsetzungen von Glucose mit Aminen aufgefunden wurde. Damit drängt sich die Frage auf, welche Bildungswege bei der Maillardreaktion zum Pyridon 21 führen.

Es ist sehr lange bekannt, daß Maltol bei der Karamelisierung von Kohlenhydraten, bei der Maillardreaktion und auch in stark erhitzten Lebensmitteln, wie Kaffee oder Brotkruste gebildet wird ³⁰⁾. In neuerer Zeit konnten zwei weitere Zuckerumwandlungsprodukte isoliert und in ihrer Struktur als Pyrone aufgeklärt werden.



20



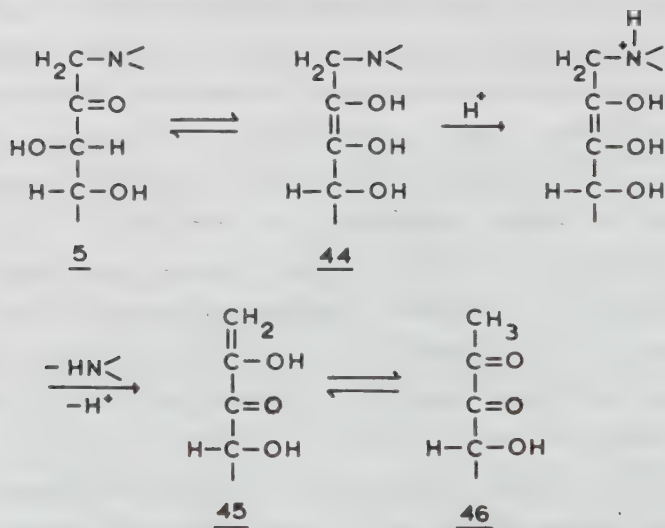
43

2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-pyron-(4) (20) entsteht bei der Karamelisierung von Zuckern (z.B. aus Glucose und Maltose) und konnte von mir in solchen Bräunungsprodukten nachgewiesen werden. In größerer Menge bildet sich 20 aber unter den Bedingungen der Maillard-Reaktion, d.h. bei der Umsetzung reduzierender Mono- oder Disaccharide mit Aminen, Aminosäuren oder Proteinen ^{10, 31)}. In verschiedenen Lebensmitteln wurde dieses Pyron identifiziert ³²⁾. Als weiteres Zuckerumwandlungsprodukt tritt neben 20 3,5-Dihydroxy-6-methyl-pyron-(4) (42) auf. Erstmals wird diese Substanz von O.Terada und Mitarbeitern ³³⁾ beschrieben. Jurch und Tatum ¹¹⁾ fanden die, auch unter der Bezeichnung 5-Hydroxy-maltol bekannte Verbindung in sehr geringen Mengen bei der Umsetzung einer wässrigen Lösung von Glucose mit Methylammoniumacetat.

Maltol konnte zwar durch trockenes Erhitzen von Maltose und von einigen Maltoseoligosacchariden dargestellt werden, jedoch nicht in isolierbaren Mengen aus Glucose, Rohrzucker oder reiner Stärke. Hodge und Mitarbeiter ³⁴⁾ erhielten Maltol in relativ hoher Ausbeute beim Erhitzen von Maltose mit Piperidinsalzen. Da Maltol nicht bei analogen Reaktionen der Glucose oder Galactose unter den Produkten identifiziert werden konnte, nimmt man an, daß für seine Entstehung das Vorliegen von 4-O-substituierten Glucosederivaten (Maltose, Lactose, Cellobiose) entscheidend ist.

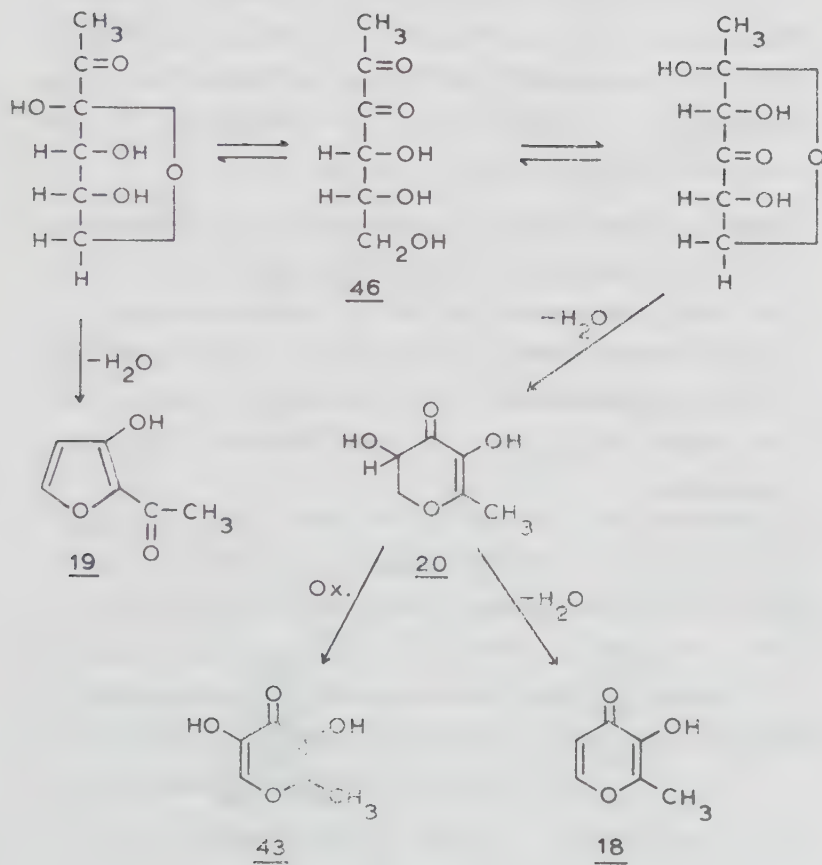
Mechanismen, die zur Bildung von Maltol, Isomaltol, 5-Hydroxy-maltol und 20 führen, sind im folgenden kurz

skizziert und erläutert:



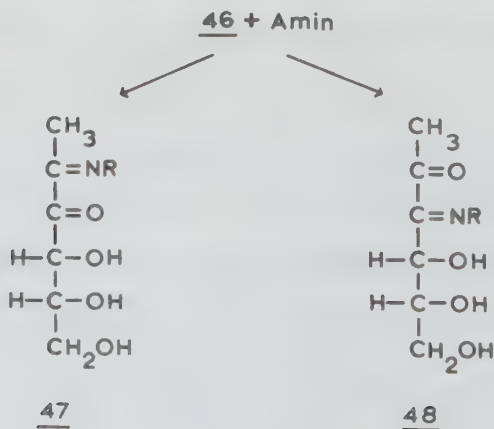
Wie schon erwähnt, entsteht aus Glucose und Amin das Glucosylamin, aus dem sich über mehrere Zwischenstufen die 1-Desoxy-1-aminofructose (5) formen kann. Aus dem 1-Amino-2,3-endiol 44 bildet sich nach Aminabspaltung über das Enol 45 die 1-Desoxy-glyco-2,3-diulose (46), die ein wichtiges Zwischenglied für viele Zuckelumwandlungsprodukte ist. Das Zwischenprodukt 46 kann unter intramolekularer Halbacetalbildung zu Furan- bzw. Pyronringen weiterreagieren. Durch darauffolgende Wasserabspaltung bzw. Oxidation entstehen die bekannten Maillard-Reaktionsprodukte Isomaltol (19), Maltol (18), 5-Hydroxymaltol (43) und 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-pyron-(4) (20) (Schema 8).

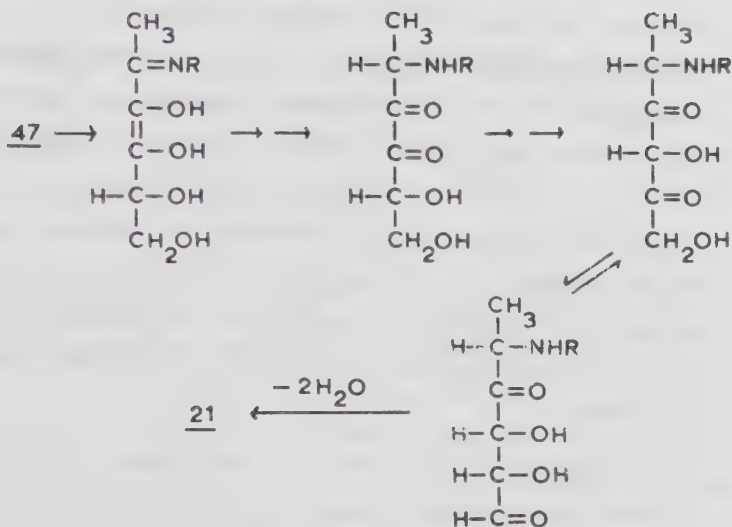
Scheme 3:



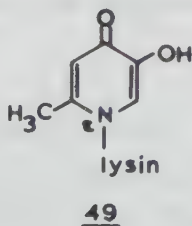
Aus den bisherigen Darlegungen über den Mechanismus zur Bildung von Zuckerumwandlungsprodukten ist nicht verständlich, weshalb Maltol und Isomaltol bevorzugt aus den reduzierenden Disacchariden Maltose bzw. Lactose gebildet werden. Unter Bedingungen, unter denen aus Lactose das Galactosylisomaltol entsteht, konnte aus Maltose nicht das entsprechende Glucosylisomaltol erhalten werden.

Ebenso, wie sich das aus Zuckern gebildete 1,2-Hexoson mit einer Aminkomponente zur Schiff'schen Base umsetzen kann, ist es auch wahrscheinlich, daß die 1-Desoxy-glyco-2,3-diulose (46) zu 47 bzw. 48 reagiert. 47 könnte unter Ringschluß und Wasserabspaltung das Pyridon 21 ergeben. Der Bildungsweg von 21 ist im folgenden Formelbild kurz aufgezeichnet:





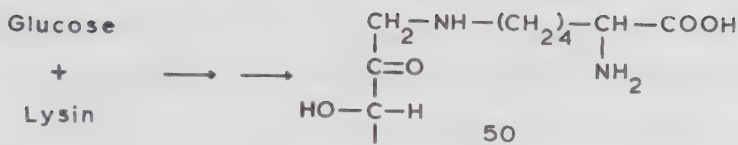
Pyridone wurden bisher als Bestandteil von Nahrungsmitteln bzw. von erhitzten Lebensmitteln, oder auch als Produkte der Reaktion von Zuckern mit Ammoniumsalzen nicht nachgewiesen. Allerdings konnte ein Pyridonderivat, das ϵ -N-(1,4-Dihydro-3-hydroxy-6-methyl-4-oxo-1-pyridyl)-L-Lysin (Pyridosin) (49), nach Einwirkung starker Säure auf hitzebehandelte Lebensmittel isoliert werden ³⁵).



Nach den bisherigen Untersuchungen liegt das Produkt in Lebensmitteln nicht vor, sondern wird erst durch Einwirkung starker Säuren aus bestimmten Vorstufen der Maillard-Reaktion gebildet. Dieses Pyridon 49 leitet sich vom Alломaltol ab; die von mir isolierte Verbindung dagegen vom Maltol. Da das Pyridosin als Indikator für Vorstufen der Maillard-Reaktion bei hitzebehandelten Lebensmitteln gilt und nahe Verwandtschaft zu dem von mir isolierten Pyridon besteht, sollen Vorkommen und Entstehung noch kurz diskutiert werden.

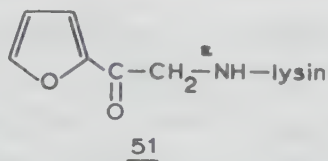
Der Bildungsmechanismus für die N-substituierten 1-Amino-1-desoxy-fructosen wurde schon in dem allgemeinen Kapitel über die Maillard-Reaktion ausführlich beschrieben. Die Aminogruppen der Aminosäuren liegen im Lebensmittel überwiegend nicht in freier Form vor, sondern sind im Protein in peptidischer Verknüpfung gebunden und somit einer Umsetzung mit reduzierenden Zuckern entzogen. Unter den Aminosäuren, die in Lebensmitteln vorkommen, besitzt das Lysin als essentielle Aminosäure besondere Bedeutung. Ihre ϵ -Aminogruppe liegt im Protein in nichtgebundener Form vor und kann mit reduzierenden Zuckern reagieren.

Glucose bildet bei der Umsetzung mit Lysin ϵ -N-(1-Desoxyfructosyl-L-Lysin) (50).



Auch das Disaccharid Lactose reagiert analog.

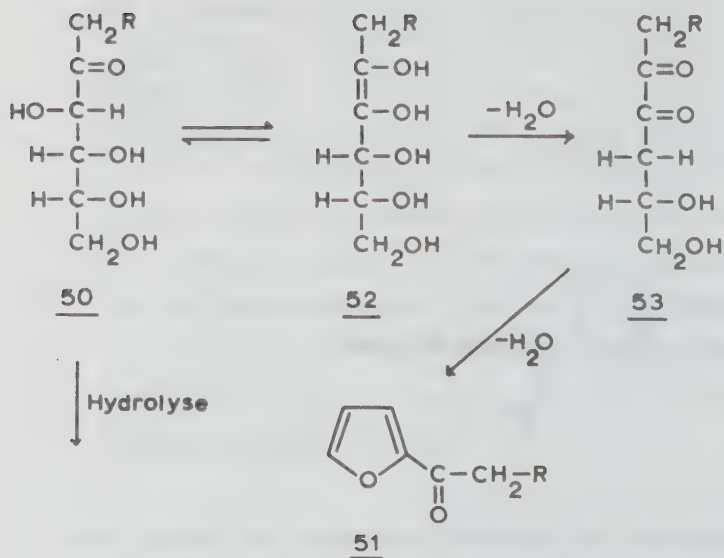
Erbersdobler und Mitarbeiter beschäftigten sich eingehend mit der Schädigung des Lysins bei der Herstellung und Lagerung von Trockenmilchprodukten ³⁶⁾. Sie unterwarfen das Untersuchungsmaterial einer salzsauren Hydrolyse und analysierten das Hydrolysat mit Hilfe der Ionenaustauschchromatographie. Bei diesen Untersuchungen wurde eine bis zu diesem Zeitpunkt unbekannte ninhydrin-positive Substanz festgestellt, die von Heyns ³⁷⁾ und Finot ³⁸⁾ als ϵ -N-(2-Furoylmethyl)-L-Lysin (Furosin) (51) identifiziert werden konnte.

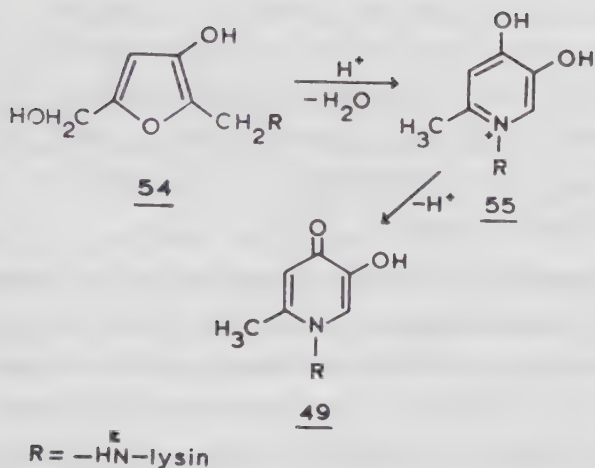


Bereits Erbersdobler berichtet, daß neben dem Furosin eine weitere Substanz bei der salzsauren Hydrolyse von Trockenmilchpulvern gebildet wird. Durch die Arbeit von Finot ³⁵⁾,

der diese gleichfalls ninhydrin-positive Verbindung isolieren konnte, war es möglich, diesem zweiten Umsetzungsprodukt die Struktur des Pyridosins (49) zuzuordnen.

Die Bildung des Furosins und des Pyridosins aus dem ϵ -Fructoselysin sei kurz erläutert. Aus der 2,3-Endiolform 52 des ϵ -Fructoselysins (50) entsteht unter Wasserabspaltung das 1-Amino-1,4-dideoxy-2,3-diketo-hexose (53), das unter erneuter Wasserabspaltung zum Furosin (51) reagiert.



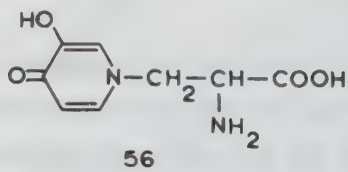


Bei der Pyridosinbildung erfolgt unter den Hydrolysebedingungen zunächst Ringschluß zu einem Hydroxyfuranderivat 54, das sich im sauren Milieu leicht unter Eliminierung von Wasser in das Pyridinderivat 55 bzw. in das Pyridosin umlagern kann ³⁹⁾.

Die analytische Bedeutung der Substanzen Furosin und Pyridosin liegt darin, daß sich über diese Verbindungen eine Hitzebehandlung von Lebensmitteln nachweisen läßt. Erhöhter Gehalt an Furosin oder Pyridosin zeigt einen verminderten Anteil von verfügbarem Lysin in einem Nahrungsmittel an und ist somit als ein Indiz für die Wertminderung eines Lebensmittels zu betrachten. Die quantitative Bestimmung von Furosin und Pyridosin ist besonders geeignet um den Grad

einer Hitzeschädigung an Lebensmitteln zu bestimmen. Die beiden Lysinderivate konnten auch in Salzsäurehydrolysaten verschiedener getrockneter Lebensmittel pflanzlichen Ursprungs, wie Karotten, Spargel, Wirsing, Lauch, Steinpilzen und, in verhältnismäßig hoher Konzentration Tomaten nachgewiesen werden ⁴⁰⁾.

Obwohl Furosin und Pyridosin Bedeutung bei der Beurteilung eines hitzegeschädigten Lebensmittels erlangt haben, handelt es sich bei beiden Verbindungen um Kunstprodukte, die erst durch Einwirkung starker Säuren aus einer Vorstufe gebildet werden; sie sind also bisher als Inhaltsstoffe von Nahrungsmitteln nicht nachgewiesen worden. In neuerer Zeit konnte aus verschiedenen Leguminosenarten eine Aminosäure mit einem 3-Hydroxy-pyridon-(4)-Rest, die β -N-(3-Hydroxy-pyridon-(4)- α -aminopropionsäure (Mimosin) (56) isoliert werden ⁴¹⁾.



Mimosin zeigt im Tierversuch toxische Eigenschaften, die zu Entkräftung, grauem Star und Gewichtsabnahme führten.

Bei der Umsetzung von Maltose mit Methylammoniumacetat entstehen neben dem Pyridon 21 zahlreiche weitere Produkte. Zur Analyse unterwarf ich den mit Methylenchlorid erhaltenen Extrakt einer Vakuumdestillation. Die flüchtigen Anteile wurden in einer luftgekühlten, einer mit Eis gekühlten und einer mit CO_2/MeOH gekühlten Falle aufzufangen. Das Ergebnis der GC-MS-Analyse der einzelnen Destillate ist in der Tabelle 1 zusammengefaßt. Die Gaschromatogramme der jeweiligen Fraktionen sind auf den folgenden Seiten abgebildet.

Viele der hier aufgeführten Verbindungen wurden schon früher als Produkte der Umsetzung von Glucose mit Methylammoniumacetat aufgefunden ¹¹⁾. Sie entstehen fast alle in weitaus geringerer Menge als das Pyridon 21.

F I Fraktion CO_2/MeOH Falle

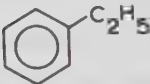
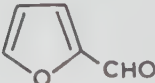
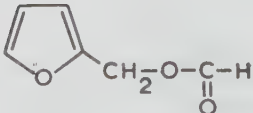
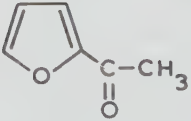
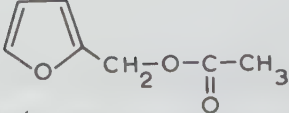
F II Fraktion eisgekühlte Falle

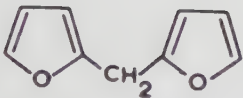
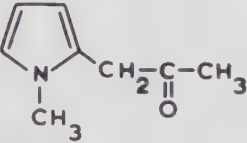
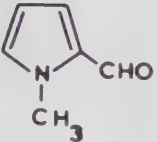
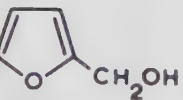
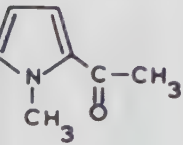
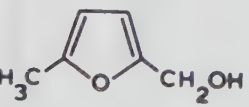
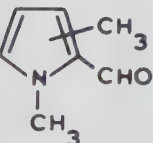
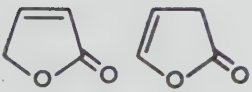
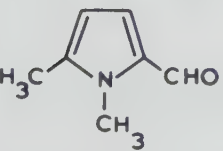
F III Fraktion luftgekühlte Falle

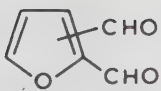
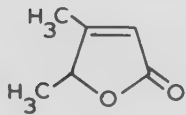
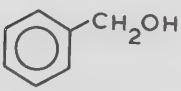
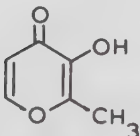
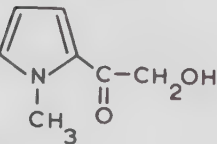
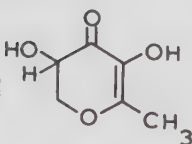
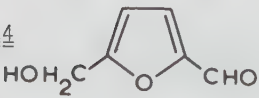
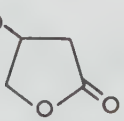
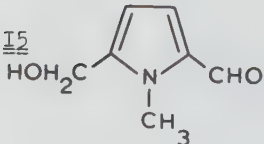
Tabelle I :

Verbindungen

Identifizierung in

	F I	F II	F III
<u>60</u> 	+		
<u>61</u> $\text{H}_3\text{C}-\overset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{C}}}-\text{C}_2\text{H}_5$	+	+	
<u>62</u> $\text{H}_3\text{C}-\overset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{C}}}-\overset{\text{H}}{\underset{\text{OH}}{\text{C}}}-\text{CH}_3$	+	+	
<u>63</u> $\text{H}_3\text{C}-\overset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{C}}}-\text{CH}_2\text{OH}$	+	+	
<u>64</u> $\text{H}_3\text{C}-\overset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{C}}}-\text{NH}-\text{CH}_3$		+	
<u>65</u> $\text{H}_3\text{C}-\text{COOH}$	+	+	+
<u>66</u> 		+	
<u>67</u> 	+	+	+
<u>68</u> 		+	
<u>69</u> 	+	+	+

	F I	F II	F III
<u>70</u> 		+	
<u>71</u> 			+
<u>72</u> 	+	+	+
<u>73</u> 	+	+	+
<u>74</u> 		+	+
<u>75</u> 		+	+
<u>76</u> 		+	
<u>77</u> 		+	+
<u>78</u> 		+	+

	F I	F II	F III
<u>79</u> 			+
<u>80</u> 			+
<u>81</u> 		+	+
<u>18</u> 			+
<u>82</u> 			+
<u>20</u> 			+
<u>14</u> 			+
<u>83</u> 			+
<u>15</u> 			+

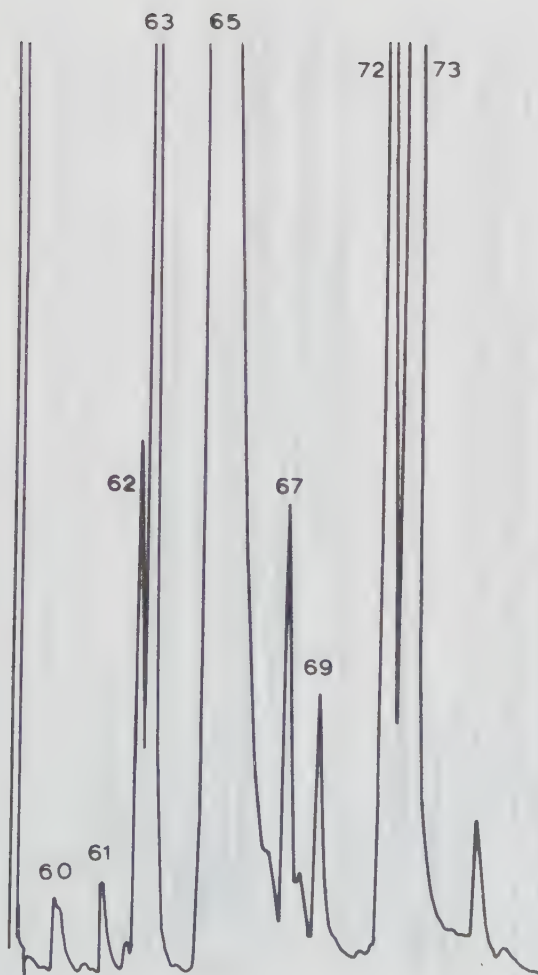


Abb.I: Gaschromatogramm Fraktion F I

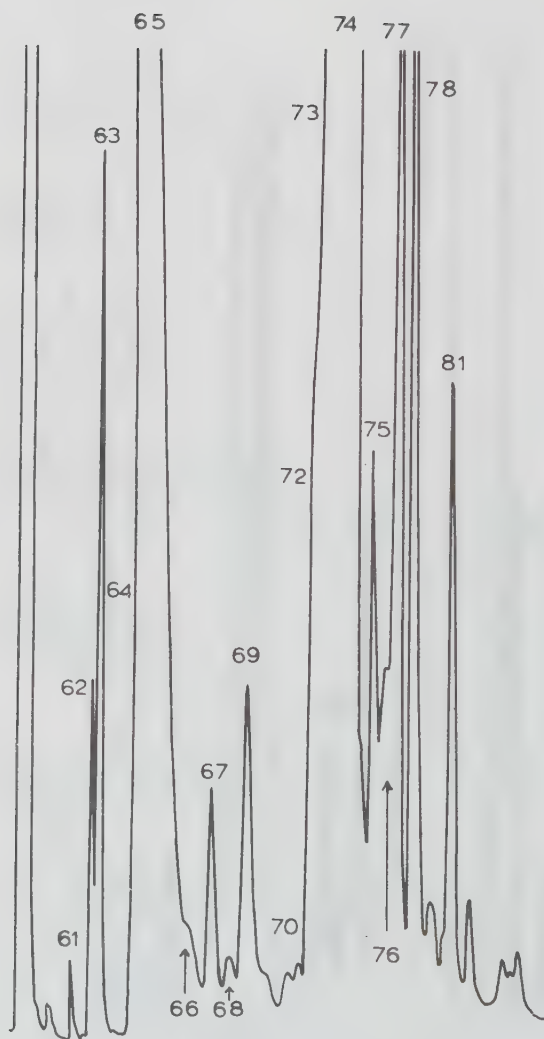


Abb.II: Gaschromatogramm Fraktion F II

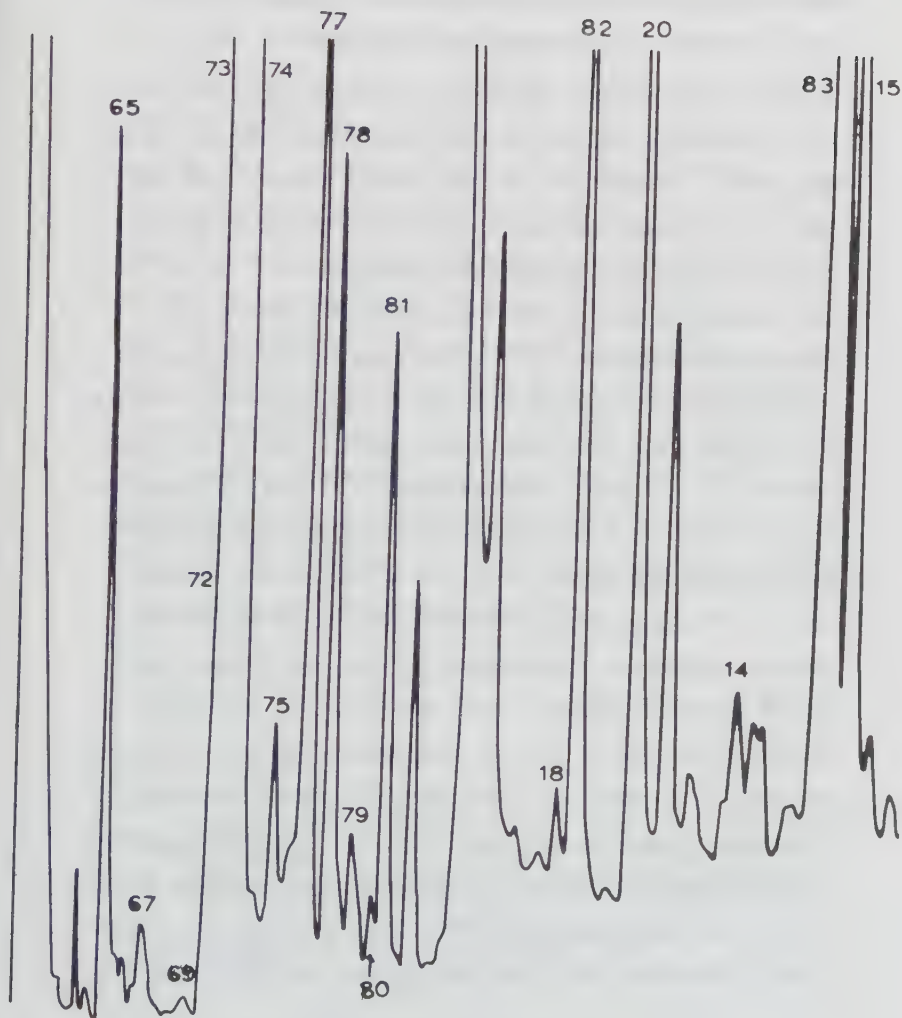


Abb.III: Gaschromatogramm Fraktion F III

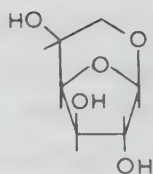
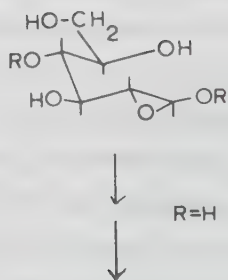
Bei Bräunungsprozessen erleiden in erster Linie die Kohlenhydrate drastische Veränderungen. Es war von Interesse die Umsetzung von Zuckern mit Methyllummoniumacetat mit der rein thermischen Zersetzung zu vergleichen.

Mehrere Arbeitskreise haben bereits Untersuchungen über die Karamelisierung von Zuckern ausgeführt. Heyns und Mitarbeiter ⁴²⁾ erhitzten Glucose mehrere Stunden auf 300°C, bzw. drei Stunden auf 500°C und trennten das Pyrolysat in 130 Verbindungen gaschromatographisch auf. Bei 56 dieser Substanzen konnte unter Zuhilfenahme verschiedener analytischer Methoden eine eindeutige Strukturzuordnung getroffen werden. Den Hauptanteil bildeten dabei verschiedene Alkylfurane. Untersuchungen von Greenwood und Mitarbeitern ⁴³⁾ und Bryce und Greenwood ⁴⁴⁾ sind von besonderem Interesse. Sie führten eine Zuckerpyrolyse bei 300°C mit 15-minütiger Dauer durch. Dabei fanden sie heraus, daß die flüchtigen Hauptprodukte bei der Pyrolyse von Stärke, Cellulose, Saccharose, Maltose und Glucose weitgehend übereinstimmten. Heyns und Klier ⁴⁵⁾ erhitzten verschiedene Zucker, so z.B. Erythrose, Xylose, Sorbose, Cellobiose, Lactose u.a. und erhielten dabei dieselben flüchtigen Produkte. Qua und Fagerson ⁴⁶⁾ identifizierten Verbindungen wie Furfural, Dihydroxyaceton, Acetal, Glycolaldehyd und Hydroxymethylfurfurol als Produkte der Thermo-lyse von Glucose, die eine Minute lang auf 250°C erhitzt

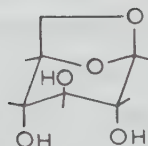
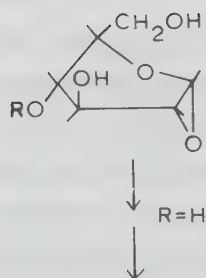
worden war. Sugisawa ⁴⁷⁾ unterwarf Glucose bei 150°C über einen Zeitraum von 2,5 Stunden einer Pyrolyse. Dabei konnte er zusätzlich zu den bereits durch die Untersuchungen von Greenwood und Bryce bekannt gewordenen Verbindungen einige Säuren identifizieren. So wies er in dem Erhitzungsgemisch die kurzkettigen Fettsäuren von der Ameisen- bis zur Valeriansäure, Bernsteinsäure, Lävulinsäure und Furancarbonsäuren nach. Sugisawa und Edo ⁴⁸⁾ fanden, daß hitzebehandelte Glucose sowohl eine Reihe von höheren Oligosacchariden als auch Hydroxymethylfurfurol und 1,6-Anhydro- β -D-glucopyranose (Laevoglucosan) enthält. Besondere Beachtung verdient, wegen ihres hohen mengenmäßigen Anteils, die Bildung von Anhydrosuckern, im besonderen Laevoglucosan (57). Bryne und Mitarbeiter ⁴⁹⁾ schlugen folgenden Mechanismus für die Bildung von 57 aus Cellulose vor (Schema 9). Neben dem Laevoglucosan entsteht 1,6-Anhydro- β -D-glucofuranose (58).

Schema 9:





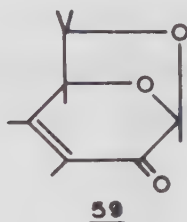
58



57

Während man früher die 1,6-Anhydroglucopyranose als bedeutendes nichtflüchtiges Abbauprodukt von Hexosen betrachtete, konnten Heyns und Mitarbeiter ⁴²⁾ nachweisen, daß 1,4 : 3,6-Dianhydroglucopyranose das Hauptprodukt darstellt, während 1,4-Anhydroglucopyranose in geringerer Menge auftritt. In jüngster Zeit isolierte man bei

einer säurekatalysierten Cellulosepyrolyse einen weiteren Anhydrozucker als 1,6-Anhydro-3,4-dideoxy- Δ^3 - β -D-Pyranosen-2-on (Trivialname Laevoglucosenon) (59) ⁵⁰⁾.



Im Rahmen meiner Untersuchungen zur Zuckerkaramelisierung versuchte ich durch Vereinfachung der GC-MS Methode eine möglichst rasche und exakte Analyse der flüchtigen Verbindungen eines Zuckerbräunungsgemisches zu erreichen. Daneben sollten die Versuchsbedingungen bei der Karamelisierung so festgelegt werden, daß Parallelen zur praktischen Lebensmittelzubereitung bestehen. Ich habe daher Glucose bzw. das Disaccharid Maltose bis zu starker Braunfärbung auf maximal 190°C erhitzt. Betrachtet man die Untersuchungen, die bisher angestellt wurden, so fällt auf, daß bei wesentlich höheren Temperaturen zersetzt wurde.

Ich habe in verschiedenen Ansätzen Glucose 30 Minuten lang bis maximal 190°C trocken erhitzt. Das dunkelbraune Zersetzungsprodukt wurde anschließend in Wasser aufgelöst und erschöpfend mit Methylenchlorid extrahiert. Der flüchtige Anteil des Extraktes wurde im Vakuum destilliert und

darauf einer GC-MS-Analyse unterworfen.

Auch Maltose habe ich unter gleichen Bedingungen einer thermischen Umwandlung unterworfen und das Reaktionsprodukt wie oben beschrieben analysiert.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in der Tabelle 2 und den Spektren zusammengefaßt:

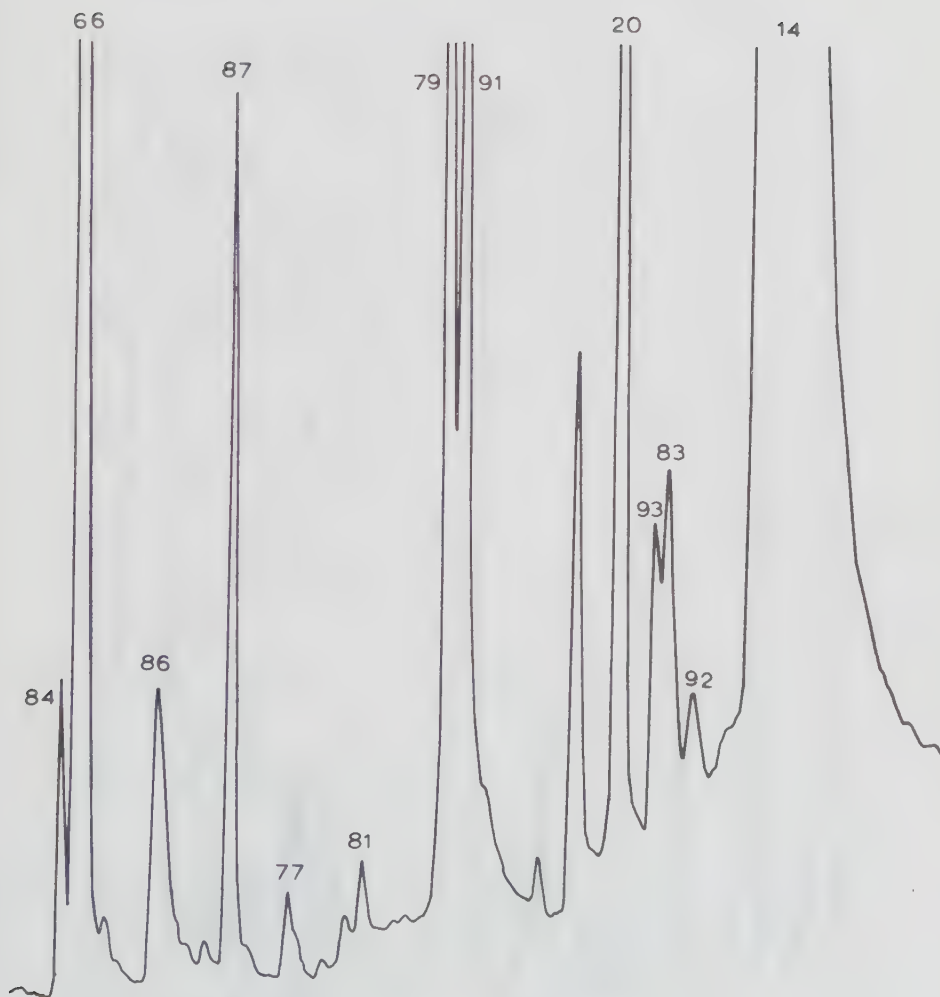


Abb.IV: Gaschromatogramm Glucose karamelisiert

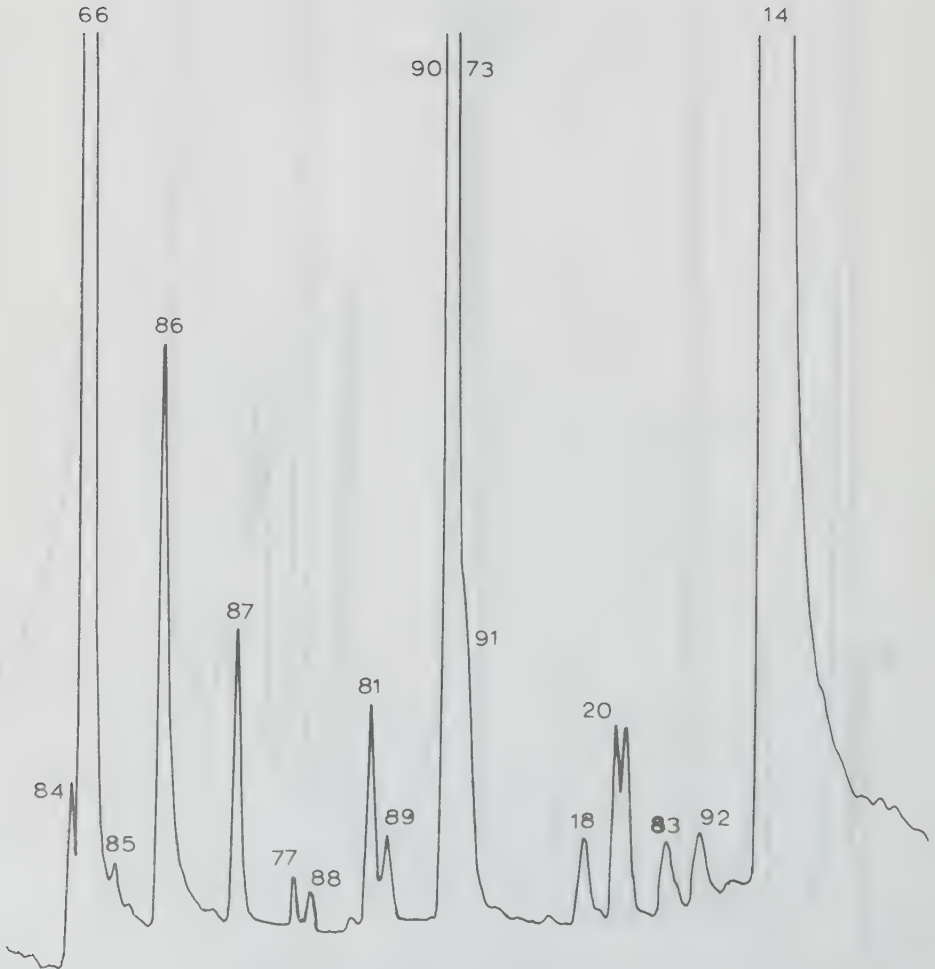


Abb.V: Gaschromatogramm Maltose karamelisiert

Tabelle 2 :

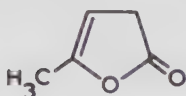
Verbindungen

Identifizierung in

Glucose

Maltose

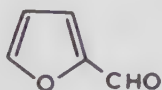
84



+

+

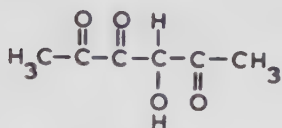
66



+

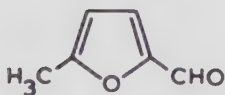
+

85



+

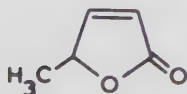
86



+

+

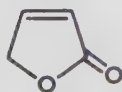
87



+

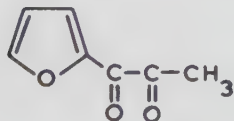
+

77



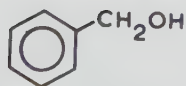
+

88



+

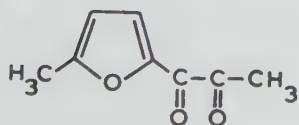
81



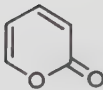
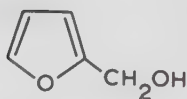
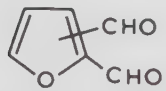
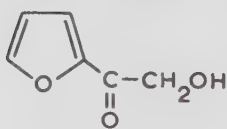
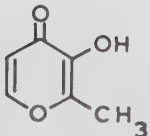
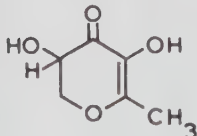
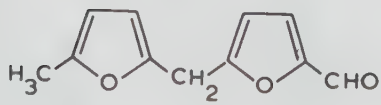
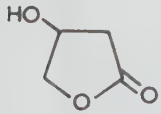
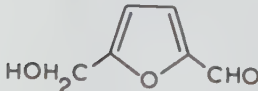
+

+

89



+

		Glucose	Maltose
<u>90</u>			+
<u>73</u>			+
<u>79</u>		+	
<u>91</u>		+	+
<u>18</u>			+
<u>20</u>		+	+
<u>93</u>		+	
<u>83</u>		+	+
<u>92</u>	$\text{H}_3\text{C}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$	+	+
<u>14</u>		+	+

Aus der Aufstellung geht hervor, daß als flüchtige Reaktionsprodukte überwiegend Furan-Derivate gebildet werden. Viele dieser Heterocyclen enthalten Seitenketten mit weiteren Sauerstoff-Funktionen. Die Pyrolyse bei höherer Temperatur (300° bzw. 500°C), die eingehend von Heyns und Mitarbeitern untersucht wurde, ergab dagegen zahlreiche Furane mit verschiedenen Alkyl-Seitenketten. Vergleicht man mit der amin-katalysierten Zuckermwandlung, so treten Unterschiede in den Reaktionsprodukten deutlich in Erscheinung.

Umsetzungen von Zuckern mit Aminosäuren oder Proteinen finden in vielen Lebensmitteln statt. Besondere Bedeutung haben derartige Vorgänge auch bei der Herstellung von Bier. Zum Abschluß meiner Untersuchungen habe ich daher Biermalz analysiert.

Bieraromastoffe wurden in den vergangenen Jahren von vielen Arbeitskreisen untersucht. Häufig wurden dabei nur sehr flüchtige bzw. konzentrationsstarke Komponenten erfaßt. Gut untersucht sind Aromastoffe, die durch den Hefestoffwechsel gebildet wurden. Diese Verbindungen liegen meist im ppm Bereich vor und zu ihnen zählt man Ester, Alkohole, Fettsäuren und Carbonylverbindungen⁵¹⁾. Daneben treten in geringen Mengen verschiedene Verbindungen auf, die man als off-flavor-Inhaltsstoffe bezeichnet. Unter diesen wertmindernden Substanzen ist das Butandion-(2,3) (Diacetyl) zu nennen, das bei einer bestimmten Konzentration im Bier einen unangenehmen, butterartigen Geschmack hervorruft. Als weitere Negativ-Komponenten gelten flüchtige, organische Schwefelverbindungen und verschiedene Aldehyde wie trans-Nonen-2-al, 2-Furfural, 5-Methylfurfural und Methional. Trans-Nonen-2-al, ein oxydatives Spaltprodukt der Linolsäure, wird schon in geringsten Konzentrationen sensorisch wahrgenommen.

Für den typischen, bitteren Geschmack eines Bieres ist zweifellos der Hopfen verantwortlich. Ungeklärt ist aber noch, inwieweit Hopfenöl-Inhaltsstoffe zum typischen

Flavor bestimmter Biere beitragen. Jedenfalls konnten bisher nur sehr wenige Komponenten aus Hopfenöl und diese wiederum nur in sehr geringen Konzentrationen nachgewiesen werden. Möglicherweise kann hier die Anwendung neuer, empfindlicher Nachweis- und Analysenmethoden weitere Erkenntnisse bringen.

Der Einfluß von Gerste, Malz bzw. Würze auf die Bildung von Aromastoffen ist bisher häufig untersucht worden. Neben den natürlichen Stoffwechselprodukten der Gerste, wie Fettsäuren und Phenolcarbonsäuren, sind vor allem nichtenzymatische Bräunungsreaktionen von reduzierenden Zuckern mit Aminosäuren von Bedeutung. Während des Darrens von Malz bzw. während des Würzekochens werden Temperaturen erreicht, unter denen auch die Maillard-Reaktion abläuft, die zur Bildung von charakteristischen Aromakomponenten führen können.

Ich habe dunkles Biermalz bzw. Färbemalz, das man zur Farbgebung in der Brauereiindustrie verwendet, in gemahlener Form mit Methanol extrahiert. Den destillierbaren Anteil des Extraktes analysierte ich mit Hilfe des GC/MS-Systems. Ein mit Methylenchlorid erhaltener Extrakt zeigte gegenüber dem mit Methanol erhaltenen nur einen wesentlich höheren Anteil an langkettigen Fettsäuren. Das Destillat wurde ohne vorherige Derivatisierung untersucht. Die Tabelle (3) enthält die von mir in dunklem Malz aufgefundenen Verbindungen:

Tabelle 3: Identifizierte Verbindungen in Malz Dunkel

I. Derivate acyclischer Kohlenwasserstoffe

Essigsäure

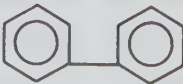
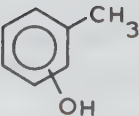
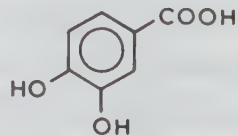
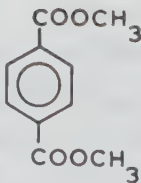
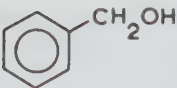
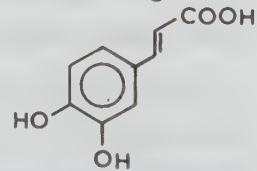
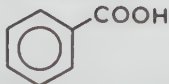
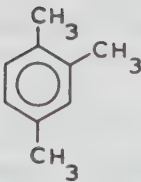
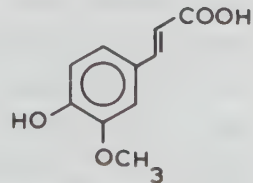
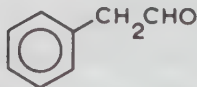
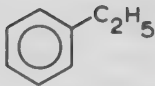
Hydroxyaceton

Palmitinsäure

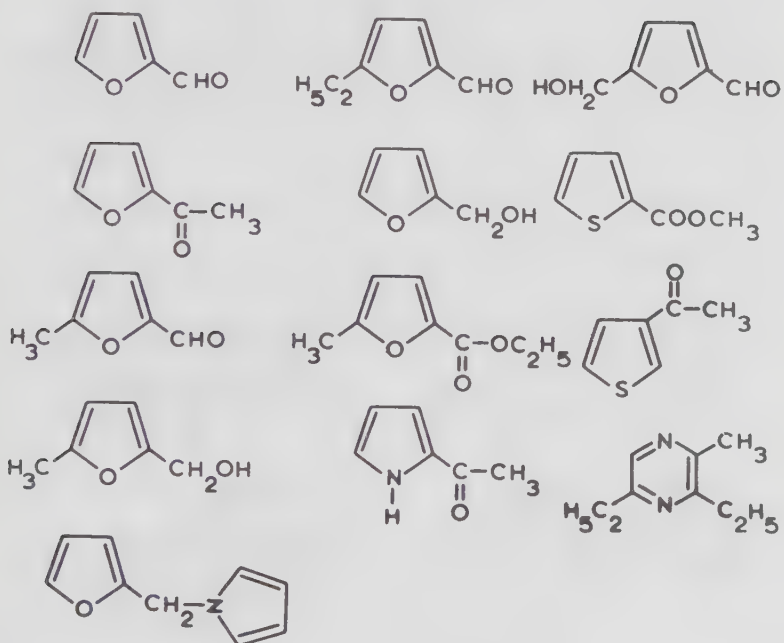
Stearinsäure

Behensäure

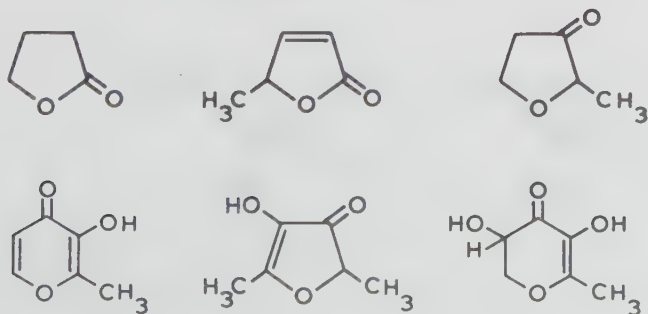
2. Derivate des Benzols



3. Heteroaromatische Verbindungen

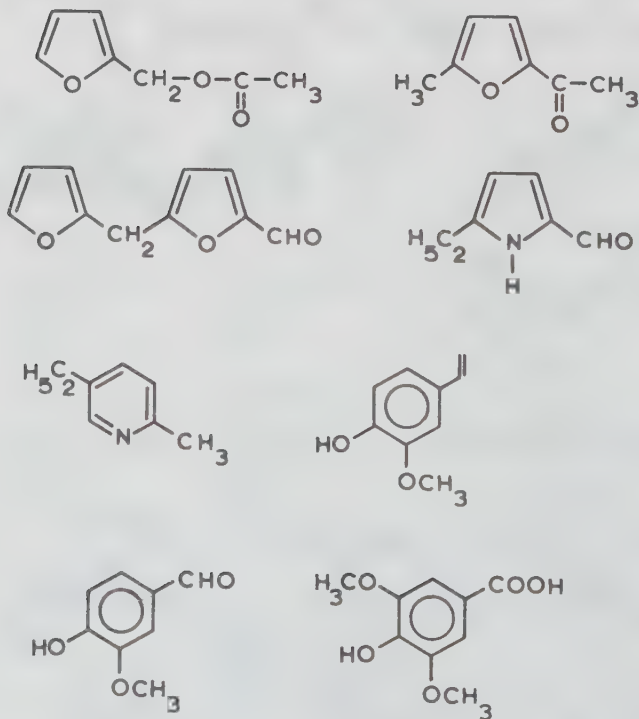


4. Sonstige Verbindungen



Die meisten der in dunklem Biermalz aufgefundenen Substanzen waren auch im Färbemalz wieder nachweisbar. Daneben konnte ich noch einige Verbindungen identifizieren, die ich bei der Analyse von dunklem Malz nicht finden konnte.

Tabelle 4:



Aus den Tabellen wird deutlich, daß viele der identifizierten Substanzen Produkte von Maillard-Reaktionen sind. Es muß noch geprüft werden, welche der Einzelkomponenten Bedeutung für das Bieraroma besitzen. Durch eingehendere Analysen sind sicher zahlreiche weitere Verbindungen nachweisbar. Bei diesem Stand der Untersuchungen erschien eine Veröffentlichung von Tressl und Mitarbeitern ⁵²⁾, der ebenfalls Bier und Malz auf flüchtige Verbindungen hin mit Hilfe der GC/MS-Technik analysierte. Sie konnten einen Teil der in den Tabellen aufgeführten Verbindungen ebenfalls nachweisen.

Zusammenfassung:

Als Maillard-Reaktion bezeichnet man nichtenzymatische Bräunungsvorgänge, die auf Umsetzungen von Zuckern mit Aminkomponenten beruhen. Dabei bilden sich braune, hochmolekulare Substanzen sowie Verbindungen mit niedrigen bzw. mittleren Molekulargewichten, die zum Teil als Aroma- und Geschmacksstoffe wirksam sind. Erste Reaktionsschritte sind bekannt, so die Entstehung der Aminosucker und deren weiterer Abbau zu α -Dicarbonylverbindungen. Diese werden als eigentlich reaktive Zwischenstufen zu den bisher isolierten, flüchtigen Zuckerumwandlungsprodukten angesehen, von denen in jüngster Zeit zahlreiche Verbindungen mittels des GC/MS-Systems aufgeklärt wurden.

Ziel meiner Arbeit war es zunächst, Zuckerumwandlungsprodukte, die bei der Karamellisierung bzw. bei der Maillard-Reaktion entstehen, mit Hilfe der GC/MS-Methode zu identifizieren. Ich unterwarf Glucose bzw. Maltose einer thermischen Umwandlung und konnte im Umsetzungsgemisch zahlreiche Verbindungen nachweisen, unter ihnen verschiedene Furane mit Sauerstoff-Funktionen in der Seitenkette. Aus dem Reaktionsprodukt von Maltose mit Methylammoniumacetat konnten neben anderen Verbindungen zahlreiche Furan- und Pyrrol-Derivate identifiziert werden. Als Hauptprodukt ließ sich dabei 1,2-Dimethyl-3-hydroxy-pyridon-(4) (21) isolieren. Diese, bisher als Zuckerumwandlungsprodukt nicht beschriebene Substanz, entstand auch bei der Reaktion von Lactose bzw.

Glucose mit Methylammoniumacetat in bevorzugter Menge. Maltol und Isomaltol ließen sich mit Methylammoniumacetat zum Pyridon 21 umsetzen. Diese und weitere Untersuchungen erlauben es noch nicht eine eindeutige Aussage darüber zu treffen, ob 21 aus einer Vorstufe der Maillard-Reaktion oder erst aus den Zuckerumwandlungsprodukten Maltol bzw. Isomaltol gebildet wird. Aus dem Umsetzungsgemisch von Isomaltol mit Glycin konnte ich l-Carboxymethyl-3-hydroxy-2-methyl-pyridon-(4) (39) in reiner Form erhalten. Bei entsprechenden Umsetzungen von Isomaltol mit Lysin bzw. mit N- α -Acetyl-Lysin konnten die Hauptprodukte der Reaktion noch nicht in ganz reiner Form erhalten werden. Einige spektroskopische Daten sprechen dafür, daß die dabei zu erwartenden Substanzen ϵ -N-(1,4-Dihydro-3-hydroxy-2-methyl-4-oxo-1-pyridyl)-L-Lysin (42) bzw. das N- α -Acetyl-Analoge entstanden sind.

Literaturverzeichnis

- 1.) Maillard L.C., C.R.hebd.Seances Acad.Sci. 154, 66 (1912).
- 2.) Schroeder L.J., Jakobellis M. und Smith A.H., J.Biol.Chem. 212, 973 (1955).
- 3.) Enders C., Biochem.Z. 312, 339 (1942).
- 4.) Isbell H.S. und Frush H.L., J.Org.Chem. 28, 2784 (1963).
- 5.) a) Reynolds T.M., Adv.Food.Res. 12, 1 (1963)
b) Reynolds T.M., Adv.Food Res. 14, 167 (1965).
- 6.) a) Heyns K., Eichstedt R. und Meinecke K.-H., Chem.Ber. 88, 1551 (1955).
b) Carson J.F., J.Am.Chem.Soc. 77, 1881 (1955).
- 7.) Pigman W.W. und Goepf R.M., Chemistry of Carbohydrates (Academic Press, New York 1948).
- 8.) Anet E.F.L.J., Aust.J.Chem. 12, 280 (1959)
J.Am.Chem.Soc. 82, 1502 (1960)
Aust.J.Chem. 13, 396 (1960)
Aust.J.Chem. 15, 503 (1962).
- 9.) Schönberg A. und Moubacher R., Chem.Rev. 50, 261 (1952).

- 10.) Severin Th. und Seilmeier W., Z.Lebensm.Unters.-
Forsch. 137, 4 (1968).
- 11.) Jurch Jr. G.R., und Tatum J.H., Carbohyd.Res.
15, 233 (1970).
- 12.) Kato H. und Fujimaki M., J.Food Sci. 33, 445 (1968).
- 13.) Manninger E., Dissertation München 1976.
- 14.) Beak P., Kinstle T.H. und Carls G.,
J.Am.Chem.Soc, 86, 3833 (1964).

Barnes C.S. und Occolowitz J.L.,
Aust.J.Chem. 17, 975 (1964).

Badawi M.M., Fayez M.B.E., Bryce T.A. und Reed R.J.,
Chem.Ind.(London) 1966, 498.
- 15.) Bonham J.,Mc Leister E. und Beak P.,
J.Org.Chem. 32, 639 (1967).
- 16.) Jones R.A.Y.,Katritzky A.R. und Lagowski J.M.,
Chem.Ind.(London) 1960, 870.
- 17.) Katritzky A.R. und Ambler A.P.,
"Physical Methods in Heterocyclic Chemistry"
Vol.II, Academic Press, New York, 1963, p. 259.
- 18.) Berson J.A., Jones W.M. und Sister L.F.
O'Callaghan, C.S.J.,
J.Am.Chem.Soc. 78, 622 (1956).
- 19.) Heyns K. und Vogelsang G.,
Chem.Ber. 87, 13 (1954).

- 20.) Severin Th. und Manninger G., Z.Lebensm.Unters.-
Forsch. 160, 1 (1976).
- 21.) Gompper R.,
Advances in Heterocyclic Chemistry Vol.II,
Academic Press, New York, 1963, p.245.
- 22.) Heyns K. und Vogelsang G., Chem.Ber. 87, 13 (1954).
Haitinger L. und Lieben A., Mh.Chem. 6, 279 (1885).
Campbell K.N., Ackerman J.F. und Campbell B.K.,
J.Org.Chem. 15, 221 (1950)
Adams R. und Johnson J.L., J.Am.Chem.Soc. 71, 705 (1949).
- 23.) Armit J.W. und Nolan T.J.,
J.Chem.Soc.(London) 1931, 3023.
- 24.) Heyns K. und Vogelsang G.,
Chem.Ber. 87, 1377 (1954).
- 25.) Yasue M., Kawamura N. und Sukakibara J.,
Yakugaku Zasshi 90, 1222 (1970).
C.A. 74, 23102b.
- 26.) Hodge J.E. und Nelson E.C.,
Cereal Chem. 38, 207 (1961).
- 27.) Backe A., Compt.rend. 150, 540 (1910);
151, 78 (1910).
- 28.) Fisher B.E. und Hodge J.E.,
J.Org.Chem. 29, 776 (1964).

- 29.) Leditschke H., Chem.Ber. 86, 123 (1953).
- 30.) Beitter H., Brot Gebaeck 17 (7), 132 (1963).
Beitter H., Ber.Getreidechemiker-Tagung, Detmold
(1963), 69.
Elderfield R., Heterocyclic Compounds, 2.Aufl.,
Bd.1, S.387, John Wiley and Sons Inc., New-York-
London 1959.
- 31.) Lit.10.
Mills F.D., Weisleder D.und Hodge J.E.,
Tetrahedron Lett. 15, 1243 (1970).
Shaw P.E., Tatum J.H. und Berry R.E.,
Carbohydr.Res. 5, 266 (1967).
- 32.) Ledl F., Schnell W.und Severin Th., Z.Lebensm.Unters.-
Forsch. 160, 367 (1976).
- 33.) Terada O., Suzuki S. und Kinoshita S.,
Nippon Nogei-Kagaku Kaishi 36, 623 (1962).
- 34.) Hodge J.E., Fisher B.E. und Nelson E.C.,
Am.Soc.Brewing Chemists. Proc. 84- 92 (1963).
- 35.) Brüggemann J. und Erbersdobler H.,
Z.Lebensm.Unters.-Forsch.137, 137 (1968).
Finot P.A., Viani R., Bricout J. und Mauron J.,
Experientia 25, 134 (1969).

- 36.) Erbersdobler H. und Zucker H.,
Milchwissenschaft 21, 564 (1966).
Erbersdobler H.,
Milchwissenschaft 25, 280 (1970).
- 37.) Heyns K., Heukeshoven J. und Brose K.H.,
Angew.Chem. 80, 627 (1968).
- 38.) Finot P.A., Viani R., Bricout J. und Mauron J.,
Experientia 24, 1097 (1968).
- 39.) Elming N. und Clauson-Kaas N.,
Acta Chem.Scand. 10, 1603 (1956).
- 40.) Sulser H. und Büchi W.,
Lebensm.-Wiss.und Technol. 2, 105 (1969).
- 41.) Keeler R.F., Lloydia 38, 74 (1975).
- 42.) Heyns K., Stute R. und Paulsen H.,
Carbohydr.Res. 2, 132 (1966).
- 43.) Greenwood C.T., Knox J.H. und Milne E.,
Chem.Ind.(London) 1961, 1878.
- 44.) Bryce D.J. und Greenwood C.T.,
Stärke 15, 285 (1963).
- 45.) Heyns K. und Klier M.,
Carbohydr.Res. 6, 436 (1968).
- 46.) Qua A. und Fagerson J.S.,
"Evolution of Volatiles from Heated Corn Hydrolyzates",
Institute of Food Technologists, Washington, 1964.

- 47.) Sugisawa H., J.Food Sci. 31, 381 (1966).
- 48.) Sugisawa H. und Edo H.,
Chem.Ind.(London) 1964, 892.
- 49.) Bryne G., Gardiner D. und Holmes F.,
J.Appl.Chem. 16, 81 (1966).
- 50.) Halpern Y., Riffer R. und Broido A.,
J.Org.Chem. 38, 204 (1973).
- 51.) Drews B., Mschr.Brauerei 19, 145 (1966).
Buttery R.G., J.Food Sci. 32, 414 (1967).
Drawert F. und Tressl R., Brauwiss. 22, 169 (1969).
Roscullet D., Brew.Digest 45, 64 (1970).
- 52.) Tressl R., Kossa T. und Renner R.,
Mschr.Brauerei 27, 98 (1974).
- 53.) Peratoner A. und Tamburello A.,
Gazz.Chim.Ital. 36 I, 41 (1905).

Experimenteller Teil

Umsetzung von Maltose mit Methylammoniumacetat.

a) Isolierung von 1,2-Dimethyl-3-hydroxy-pyridon-(4) (21).
36g Maltose, 6g Eisessig und 28g Methylaminlösung (33 %) werden in 100 ml Wasser 3h unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Nach dem Erkalten extrahiert man 8-10h im Perforator mit Methylenchlorid. Die braune, organische Phase wird über Na_2SO_4 getrocknet und i.Vak. eingedampft. Durch erneute Zugabe von wenig Methylenchlorid scheidet sich 21 kristallin ab. Zur Gewinnung kann man auch den gesamten Extraktionsrückstand einer Vakuumdestillation (0.1 Torr) unterwerfen. Bei 150-170°C scheidet sich 21 in kristalliner Form in der luftgekühlten Vorlage ab. Man reinigt 21 durch mehrmaliges Umkristallisieren aus Dimethylformamid.

Farblose Kristalle, Smp. 260-265°C (Zers.), Ausb. 1 g bez. auf die eingesetzte Zuckermenge.

21 entsteht ebenso in neutraler Lösung.

$\text{C}_7\text{H}_9\text{NO}_2$ (139.1) Ber. C 60.42 H 6.52 N 10.07

Gef. C 60.13 H 6.30 N 10.25

MS: m/e 139 (97%, M^+), 138 (30), 124 (20), 111 (42), 110 (100), 96 (18), 94 (25), 82 (19), 67 (21), 56 (35), 55 (37), 42 (50), 41 (30), 39 (20).

IR (KBr): 3160, 1630 cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD): δ = 2.43 ppm (s), 3.76 (s), 6.39 (d, $J=7.2$ Hz), 7.60 (d, $J=7.2$ Hz).

UV (H_2O): λ_{max} = 215 ($\log \epsilon = 4.2$), 280 nm ($\log \epsilon = 4.1$).

b) GC/MS-Analyse der flüchtigen Produkte.

Bei der Isolierung von 21 wird ein Teil des mit Methylenchlorids erhaltenen Extraktes einer Vakuumdestillation unterworfen (o.1 Torr, 150-170°C). Die flüchtigen Anteile fängt man in einer luftgekühlten, einer mit Eis gekühlten und einer mit CO₂/Methanol gekühlten Falle auf. Die einzelnen Destillate werden getrennt einer GC/MS-Analyse unterworfen.

Gaschromatographie:

Säule: 5% FFAP auf Chromosorb W-AW-DMCS, 2.5 m Länge, 1/8", 60/80 mesh.

Säulentemp.: 70°C, mit 6°/min auf 240°C, 10 min bei 240°C.

Detektor: (FID) 250°C, Injektor: 250°C.

Massenspektrometrie:

Elektronenvolt: 70 Ionenquellentemp.: 230°C.

Umsetzung von Lactose mit Methylammoniumacetat.

Die Isolierung von 21 erfolgt wie für Maltose beschrieben. Ausb. 1.4% bez. auf die eingesetzte Zuckermenge.

Bildung von 21 aus Maltol (18).

2.5g Maltol, 2.8g Methylaminlösung (33%) und o.6g Eisessig werden in 50ml Wasser 4-5h unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Die erkaltete Lösung extrahiert man 8-10h im Perforator mit Methylenchlorid. Die organische Phase wird mit

Na_2SO_4 getrocknet und i.Vak. eingedampft. Den Rückstand reinigt man chromatographisch (PSC-Fertigplatten Kieselgel F 254, MERCK, 2 mm Schichtdicke; Laufmittel: Benzol/Methanol (1:1); Rf-Wert 0.25 - 0.50) und sublimiert i.Vak. (0.1 Torr, 150-170°C). Ausb. 55%.

Die gleiche Umsetzung ist auch im Neutralen und schwach Sauren (pH 4-5) durchführbar, wobei man 21 mit etwas geringerer Ausbeute isolieren kann.

Bildung von 21 aus Isomaltol (19).

2.5g Isomaltol, 2.8g Methylaminlösung (33%) und 1.8g Eisessig (neutral) bzw. 0.6g Eisessig (alkalisch) werden in 50 ml Wasser unter Rückfluß 3h zum Sieden erhitzt. Die erkaltete, wäßrige Lösung extrahiert man 8-10h im Perforator mit Methylenchlorid. Die organische Phase wird mit Na_2SO_4 getrocknet, das Lösungsmittel i.Vak. verdampft und der Rückstand mehrfach aus heißem Dimethylformamid umkristallisiert. Ausb. 57%.

Darstellung von 1,2-Dimethyl-3-methoxy-pyridon-(4) (24)

1.4g Maltol-O-methyläther⁵³⁾ (25) und 2.8g Methylaminlösung (33%) werden in 30 ml Wasser 3-4h unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Nach dem Erkalten extrahiert man mit Methylenchlorid, trocknet mit Na_2SO_4 und dampft die organische Phase i. Vak. ein. Den Rückstand unterwirft man einer chromatographischen Reinigung (PSC-Fertigplatten Kieselgel F 254,

MERCK, 2 mm Schichtdicke; Laufmittel: Benzol/Methanol (6:4), Rf-Wert 0.5-0.6) und sublimiert i.Vak. (0.1 Torr, 130-140°C). In der luftgekühlten Vorlage scheidet sich ein gelbliches Öl ab, das rasch durchkristallisiert. Smp. 75-76°C (aus Methylenchlorid), Ausb. 50%.

Das Kristallwasser läßt sich in der Trockenpistole (90°C, 15 Torr, CaCl₂) entfernen. Die Verbindung schmilzt dann bei 122°C und ist hygroskopisch.

C₈H₁₁NO₂ · H₂O (171.2) Ber. C 56.13 H 7.65 N 8.18

Gef. C 55.93 H 7.35 N 8.24

MS: m/e 153 (100% M⁺), 124 (60), 122 (68), 110 (60), 94 (53).

IR (KBr): 3460, 1630 cm⁻¹.

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 2.36 ppm.(s), 3.63 (s), 3.89 (s), 6.36 (d, J=7.4 Hz), 7.25 (d, J=7.4 Hz).

UV (H₂O): λ_{max} = 213 (log ε = 4.3), 268 nm (log ε = 4.2).

Methylierung von 21.

1.4g 21 werden in 30 ml Methanol suspendiert. Über einen Zeitraum von etwa 30 Min. versetzt man unter Rühren mit 1.2g Diazomethan, gelöst in kaltem Äther. Danach wird i.Vak. eingedampft und der Rückstand, wie bei der Darstellung von 24 beschrieben, gereinigt. Das Produkt ist mit 24 identisch. Ausb. 45%.

Als weiteres Reaktionsprodukt ($R_f = 0.1 - 0.2$) wird ein Pyridiniumbetain (26) gebildet. Die Reinigung erfolgt wie bei der Darstellung von 24 beschrieben. 26 sublimiert i.Vak. in die luftgekühlte Vorlage (0.1 Torr, $150^{\circ}-160^{\circ}\text{C}$). Farblose Kristalle, Smp. 170°C .

$\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}_2$ (153,17) Ber. C 62.73 H 7.23 N 9.14

Gef. C 62.60 H 6.92 N 9.28

MS: m/e 153 (100% M^+), 124 (58), 122 (70), 110 (60), 94 (53).

IR (KBr): 1590, 1560, 1510 cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (DC_3OD): $\delta = 2.55\text{ ppm}$ (s), 4.02 (s), 4.05 (s),

7.06 (d, $J = 7.0\text{ Hz}$), 7.72 (d, $J = 7.0\text{ Hz}$).

Bildung von 1-Carboxymethyl-3-hydroxy-2-methyl-pyridon-(4)(39)

3.8g Isomaltol und 2.9g Glycin-Natriumsalz werden in 100ml Wasser 5h unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Die erkaltete Lösung wird mit 3N Salzsäure neutralisiert und anschließend 7-8h im Perforator mit Methylenchlorid extrahiert. Aus der wäßrigen Phase scheiden sich Kristalle ab, die man abtrennt. Farblose Kristalle, Smp. $260-265^{\circ}\text{C}$ (Zers., aus Dimethylformamid), Ausb. 29%.

$\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_4$ (183.1) Ber. C 52.46 H 4.95 N 7.65

Gef. C 52.18 H 4.72 N 7.57

MS: m/e 183 (100% M^+), 165 (78), 138 (70), 136 (75), 124 (27), 110 (60), 97 (18), 96 (20), 69 (33), 57 (40), 42 (50).

IR (KBr): 3070, 1640 cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_2\text{D}_7\text{NO}$): δ = 2.33 ppm (s), 5.00 (s), 6.29 (d, J = 7.4 Hz), 7.74 (d, J = 7.4 Hz).

UV (H_2O): λ_{max} = 217 ($\log \epsilon$ = 4.3), 282 nm ($\log \epsilon$ = 4.2).

Methylierung von 32 zu 1-Carbmethoxymethyl-3-hydroxy-2-methyl-pyridon-(4).(40).

1.0g 32 werden in 20 ml Methanol suspendiert. Über einen Zeitraum von mehreren Minuten versetzt man unter Rühren mit 0.7g Diazomethan (in Äther). Beim Eindampfen der Lösung erhält man Kristalle. Smp. 185°C (aus Acetonitril), Ausb. 85%.

MS: m/e 197 (20% M^+), 165 (10), 138 (13), 69 (25), 58 (30), 55 (20), 43 (100).

IR (KBr): 3180, 1750, 1635 cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD): δ = 2.29 ppm (s), 3.79 (s), 4.96 (s), 6.41 (d, J = 7.4 Hz), 7.57 (d, J = 7.4 Hz).

Decarboxylierung von 32.

0.5g 32 unterwirft man einer Vakuumdestillation (0.1 Torr, $140\text{--}150^\circ\text{C}$); in der luftgekühlten Vorlage scheiden sich farblose Kristalle ab, die den Spektren nach mit 21 identisch sind. Ausb. 75%.

Umsetzung von Isomaltol (19) mit Lysin.

2.5g Isomaltol und 2.9g Lysin werden in 50 ml Wasser 5 - 6h unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Die erkaltete Lösung extrahiert man 8 - 10 h im Perforator mit Methylenchlorid. Die wässrige Phase wird chromatographiert (PSC-Fertigplatten Kieselgel F 254, MERCK, 2 mm Schichtdicke; Laufmittel: n-Propanol/ NH_3 (25%) (6:4); 3 Zonen; Zone II mit Rf-Wert = 0.3 - 0.4 gibt eine tiefviolette Färbung mit FeCl_3 ; Zone II wird in Methanol/Wasser (1:) eluiert, das Lösungsmittel i. Vak. verdampft; die erhaltenen braunen plättchenförmigen Kristalle entsprechen Verbindung 42.

UV (H_2O): λ_{max} = 220 ($\log \epsilon = 4.3$), 280 nm ($\log \epsilon = 4.2$). Weitere Daten, die die Struktur von 42 eindeutig beweisen würden, konnten wegen der ungenügenden Reinheit der Substanz nicht erhalten werden.

Umsetzung von Isomaltol (19) mit N- α -Acetyl-Lysin.

2.5g Isomaltol und 3.6g N- α -Acetyl-Lysin werden in 50 ml Wasser 6-7h unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Die erkaltete Lösung extrahiert man 8-10h im Perforator mit Methylenchlorid. Die wässrige Phase wird chromatographiert (PSC-Fertigplatten Kieselgel F 254, MERCK, 2 mm Schichtdicke; Laufmittel: Chloroform/Methanol/ NH_3 (25%) (2:2:0,5); 1 Zone : Rf-Wert = 0.4 - 0.5; tiefviolette Färbung mit FeCl_3 .

Umsetzung von Isomaltolmethylläther (33) zu 2-Acetyl-3-methoxy-1-methyl-pyrrol (41).

1.4g Isomaltolmethylläther und 4.8g Methylamin (33%) werden 5 h in 50 ml Wasser unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Die erkaltete Lösung extrahiert man 6-7h im Perforator mit Methylenchlorid. Die organische Phase wird chromatographiert (PSC-Fertigplatten Kieselgel F 254, MERCK, 2 mm Schichtdicke; Laufmittel: Benzol/Methanol (1:1); 3 Zonen: Zone I Rf-Wert = 0.3-- 0.5 enthält Verbindung 2I; Zone II Rf-Wert = 0.1 - 0.2 enthält das Betain 26; Zone III Rf-Wert = 0.8 - 0.9 enthält Verbindung 41;) 41 wird durch Umkristallisieren mit Chloroform gereinigt.

$C_8H_{11}NO_2$ (153.17) Ber. C 62.73 H 7.23 N 9.14

Gef. C 62.50 H 6.95 N 9.24

MS: m/e 153 (100% M⁺), 138(75), 123(30), 110(28), 96(65), 82(15), 80(10), 69(25), 67(30), 43(55), 42(92).

IR (KBr): 1630 cm⁻¹.

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 2.43 ppm (s), 3.90 (s), 5.81 (d, J = 3.0 Hz), 6.66 (d, J = 3.0 Hz).

GC/MS- Analyse der flüchtigen Inhaltstoffe von karamelisierter Glucose bzw. Maltose.

Karamelisierung erfolgt wie im theoretischen Teil bereits beschrieben. Der mit Methylenchlorid erhaltene Extrakt wird i. Vak. destilliert (0.1 Torr, 150-170°C). Das Destillat wird einer GC/MS-Analyse unterworfen.

Gaschromatographie:

Säule: 2.5% SP 1000 auf Chromosorb G-AW-DMCS, 1.8 m Länge

1/8", 80/100 mesh.

Säulentemp.: 100°C, mit 4°/min auf 225°C.

Detektor: (FID) 250°C

Injektor: 250°C.

Massenspektrometrie:

Elektronenvolt: 70

Ionenquellentemp.: 230°C.

GC/MS-Analyse von dunklem Malz bzw. Färbemalz.

Das fein zerkleinerte Untersuchungsmaterial wird erschöpfend mit Methanol extrahiert. Der Extrakt wird i. Vak. destilliert (0.1 Torr, 150-170°C). Das Destillat wird einer GC/MS-Analyse unterworfen.

Gaschromatographie:

Säule: 5% FFAP auf Chromosorb W-AW-DMCS, 2.5 m Länge, 1/8", 60/80 mesh.

Säulentemp.: 70°C, mit 4°/min auf 240°C.

Detektor: (FID) 250°C,

Injektor: 250°C

Massenspektrometrie:

Elektronenvolt: 70

Ionenquellentemp.: 230°C

Für die Aufnahme der Spektren sowie die gaschromatographischen Untersuchungen fanden folgende Geräte Verwendung:

Varian T 60 NMR Spektrometer

Perkin Elmer 257 Grating Infrared Spektrophotometer

Varian C H 7 Mass-Spektrometer

Zeiss Spektralphotometer P M Q II

Varian Aerograph Series 2800

Varian Aerograph Series 1400

L e b e n s l a u f

Albert, Friedrich Loidl

geboren 18.9.1945 in Surheim
als Sohn des Bäckermeisters
Josef Loidl und seiner Ehefrau
Therese, geb. Bachmaier.

Schulen

1951-1957 Volksschule in Surheim
1957-1964 Oberrealschule in Traun-
stein

Reifeprüfung

1964-1967 Abendschule in Salzburg
Oktober 1967.

Berufsausbildung

WS 1967/68 - SS 1972 Studium der
Lebensmittelchemie, Universität
München

Staatsexamen

August 1972

Seit September 1972 arbeite ich unter Anleitung von Herrn
Professor Dr. Th. Severin am Institut für Pharmazie und
Lebensmittelchemie in München an der vorliegenden Disser-
tation.

city schnelldruck ohg, 87 Würzburg, Marcusstraße 10a